

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 10 月 23 日 (23.10.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/086334 A1

(51) 国際特許分類: A61K 7/06, 45/00, A61P 17/14, C07D 271/08, 313/00, 493/04, 493/06, 493/08, 493/16

(KASAI,Yoko) [JP/JP]: 〒170-8633 東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/04884

(74) 代理人: 佐島 宗一, 外(SATORI,Soichi et al.); 〒170-8633 東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社 知的財産部内 Tokyo (JP).

(22) 国際出願日: 2003 年 4 月 17 日 (17.04.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-115529 2002 年 4 月 17 日 (17.04.2002) JP

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NI, NO, NZ, OM, PI, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SI, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(71) 出願人/米国を除く全ての指定国について: 大正製薬株式会社 (TAISHO PHARMACEUTICAL CO.,LTD.) [JP/JP]: 〒170-8633 東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 Tokyo (JP).

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 池田 明子 (IKEDA,Akiko) [JP/JP]: 〒170-8633 東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内 Tokyo (JP). 篠永 英樹 (SHINONAGA,Hideki) [JP/JP]: 〒170-8633 東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内 Tokyo (JP). 藤本 奈津子 (FUJIMOTO,Natsuko) [JP/JP]: 〒170-8633 東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内 Tokyo (JP). 葛西 陽子

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。



WO 03/086334 A1

(54) Title: HAIR GROWTH TONIC

(54) 発明の名称: 育毛剤

(57) Abstract: A hair papilla cell growth promoter, a hair growth stimulant and a hair growth tonic containing a compound having an activity of inhibiting the function of WNT-5A.

(57) 要約: WNT-5A の機能阻害活性を有する化合物を含有する毛乳頭細胞増殖促進剤、発毛剤及び育毛剤。

BEST AVAILABLE COPY

明細書

育毛剤

技術分野

本発明は、毛乳頭細胞増殖促進剤、発毛剤及び育毛剤に関するものである。具体的には、WNT-5Aの機能阻害物質を有効成分とする毛乳頭細胞増殖促進剤、発毛剤及び育毛剤に関するものである。また、WNT-5A機能阻害作用に基づく毛乳頭細胞増殖促進剤のスクリーニング方法に関するものである。

背景技術

ヒト毛髪毛包は、角化細胞、毛乳頭細胞、繊維芽細胞及び脂腺細胞等の様々な上皮系及び真皮間様系の細胞から構成されており、これらの細胞間相互作用を介して、毛髪の成長サイクル（毛周期）が調節されている。毛の本体は、毛包角化細胞の増殖／分化（角化）により形成されるが、この毛包角化細胞の増殖、分化及びアポトーシスを制御し、毛周期調節の中心的な役割を担っているのは、毛乳頭である。したがって、発毛剤／育毛剤を開発する上で毛乳頭細胞に対する作用を研究することは重要と考えられる。しかし、これまでに毛乳頭細胞の増殖能及び毛周期調節能を制御する分子機構については、ほとんど明らかにされていない。

一方、WNT-5Aは、WNTファミリーに属する分泌性糖蛋白質である。WNTファミリーには、約20種類の分子が存在し、各分子は線虫から哺乳類まで広く保存されている。これらWNTsは、胎生期の体軸形成や器官形成を制御する重要な細胞間シグナル分子であることが知られている（Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 14, 59-88（1998）、Genes&Dev. 11, 3286-3305（1997））。WNTsの受容体は、7回膜貫通型のFrizzledで、ヒトでは10種類存在する（Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 14, 59-88（1998）、Genes&Dev. 11, 3286-3305（1997））。WNTとFrizzledの結合の組み合わせに依存して、3種類のシグナル伝達経路（WNT/ β -カテニン経路、PCP経路、WNT/ Ca^{2+} 経路）が存在する（Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 14, 59-88（1998））。

近年、WNT/ β -カテニン経路が毛包形成に重要であることが明らかにされた（G

enes & Dev. 8, 2691-2703 (1994)、Cell 95, 605-614 (1998)、Dev. Biol. 207, 133-149 (1999)、Genes & Dev. 14, 1181-1185 (2000)、Cell 105, 533-545 (2001))。1998年には、安定化 β -カテニンの皮膚におけるトランスジェニックマウスが作製され、このマウスは毛包新生が亢進し多毛となることが報告された (Cell 95, 605-614 (1998))。また、2000年には、毛乳頭細胞の毛包誘導能の維持に、WNT/ β -カテニンシグナルが重要であることが報告された (Genes & Dev. 14, 1181-1185 (2000))。

しかし、WNT-5Aからのシグナル伝達は、 β -カテニン経路ではなく、 Ca^{2+} 経路を介することが明らかにされており (Dev. Biol. 182, 114-120 (1997)、Curr. Biol. 9, 695-698 (1999))、WNT-5Aと毛包新生との関連性については何ら報告はない。

この他、アフリカツメガエルWNT-5A mRNA をヒトFrizzled5 mRNAとともにアフリカツメガエル初期胚に注入すると二次体軸が誘導する (Science 275, 1652-1654 (1997)) 一方、WNT-1やWNT-8 mRNAの注入により誘導される二次体軸形成をWNT-5Aが抑制するという報告 (J. Cell Biol. 133, 1123-1137 (1996)) や、アフリカツメガエルWNT-5Aは、ラットFrizzled2と結合し、 Ca^{2+} 経路を介してCamKII (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II) とPKC (protein kinase II) が活性化されるなどの報告 (Curr. Biol. 9, 695-698 (1999)) があるが、生理的な意味は未だ解明されておらず、WNT-5Aと発毛/育毛との関連性についても何ら報告はない。

発明の開示

本発明は、毛乳頭細胞の増殖を制御する分子を用いたスクリーニング方法、毛乳頭細胞増殖促進剤並びに新規な作用に基づく発毛剤又は育毛剤を提供することを目的とする。

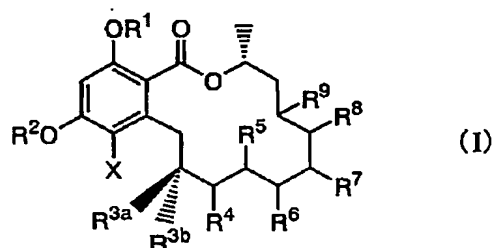
本発明者らは上記目的のため鋭意研究を行った結果、毛乳頭細胞にWNT-5Aが高発現していること、WNT-5Aが毛乳頭細胞の増殖能に関与することを発見した。さらにこの知見に基づき検討を重ねた結果、WNT-5Aの機能を阻害することにより毛乳頭細胞の増殖を顕著に促進し、毛包の毛球部位を増大することを見出し

、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明の1態様によると、WNT-5Aの機能阻害活性を有する化合物を含有する毛乳頭細胞増殖促進剤を提供する。

また、本発明の他の態様によると、WNT-5A産生抑制作用を有する化合物を含有する毛乳頭細胞増殖促進剤を提供する。

また、本発明の他の態様によると、式 (I)



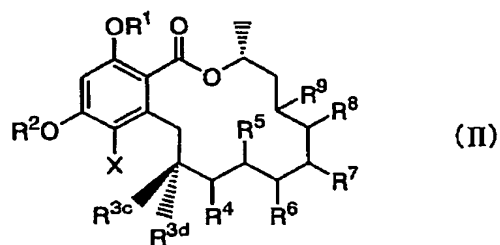
[式中、 R^1 及び R^2 は 同一又は異なって水素原子、 C_{1-6} アルキル基又は C_{2-6} アルカノイル基を示し、

X は水素原子又はハロゲン原子を示し、

R^{3a} 及び R^{3b} は異なって水素原子又は水酸基を示し、

R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及び R^9 は同一又は異なって水素原子、水酸基、ハロゲン原子又は C_{2-6} アルカノイルオキシ基を示すか、又は隣り合う基が一緒になってパイ結合又はエーテル結合を形成するか、あるいは R^5 と R^8 若しくは R^5 と R^9 が一緒になってエーテル結合を形成する。]で表される化合物を提供する。

また、本発明の他の態様によると、式 (II)



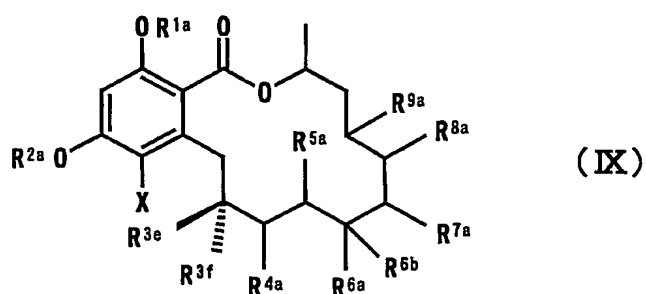
[式中、 R^1 及び R^2 は 同一又は異なって水素原子、 C_{1-6} アルキル基又は C_{2-6} アルカノイル基を示し、

X は水素原子又はハロゲン原子を示し、

R^{3c} 及び R^{3d} は同一又は異なって水素原子、水酸基又は C_{1-6} アルコキシ基を示すか、あるいは R^{3c} と R^{3d} が一緒になってオキシ基、ヒドロキシイミノ基又は C_{1-6} アルコキシイミノ基を形成し、

R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及び R^9 は同一又は異なって水素原子、水酸基、ハロゲン原子又は C_{2-6} アルカノイルオキシ基を示すか、又は隣り合う基が一緒になってパイ結合又はエーテル結合を形成するか、あるいは R^5 と R^8 若しくは R^5 と R^9 が一緒になってエーテル結合を形成する。]で表される化合物を含有する毛乳頭細胞増殖促進剤を提供する。

また、本発明の他の態様によると、式 (IX)



[式中、 R^{1a} 及び R^{2a} は 同一又は異なって水素原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルカノイル基、

$(\text{CH}_2)_p$, $\text{CO}-\text{Y}-\text{R}^{10}$ (式中、Yは酸素原子又は硫黄原子を示し、 R^{10} は水素原子、 C_{1-6} アルキル基又は置換若しくは無置換のアリール基を示し、pは0又は1を示す。) で表される基、

$(\text{CH}_2)_q$, R^{11} (式中、 R^{11} は置換若しくは無置換のシクロアルキル基又は置換若しくは無置換の C_{2-10} ヘテロ環を示し、qは0又は1を示す。) で表される基、又は COR^{12} (式中、 R^{12} は置換若しくは無置換のアリール基又は置換若しくは無置換の C_{2-10} ヘテロ環を示す。) で表される基を示し、

Xは水素原子又はハロゲン原子を示し、

R^{3e} 及び R^{3f} は同一又は異なって水素原子、水酸基、 C_{1-6} アルコキシ基又は C_{1-6} アルカノイルオキシ基を示すか、又は R^{3e} と R^{3f} が一緒になってオキシ基、ヒドロキシイミノ基又は C_{1-6} アルコキシイミノ基を形成し、

R^{4a} 、 R^{5a} 、 R^{6a} 、 R^{7a} 、 R^{8a} 及び R^{9a} は同一又は異なって水素原子、水酸基、ハロゲン原子又は

$\text{Z}-\text{R}^{13}$ (式中、Zは酸素原子又は硫黄原子を示し、 R^{13} は C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルカノイル基又は置換若しくは無置換のアリール基を示す。) で表される基を示すか、又は隣り合う基が一緒になってパイ結合又はエーテル結合を形成するか、あるいは R^{5a} と R^{8a} 若しくは R^{5a} と R^{9a} が一緒になってエーテル結合を形成し、

R^{6b} は水素原子を示すか、あるいは R^{3e} 若しくは R^{3f} と一緒になってエーテル結合を形成する。] で表される化合物を含有する毛乳頭細胞増殖促進剤を提供する

。

また、本発明の他の態様によると、上記毛乳頭細胞増殖促進剤を有効成分とする発毛剤又は育毛剤を提供する。

また、本発明の他の態様によると、WNT-5Aの機能を阻害する物質を選択することを特徴とする、毛乳頭細胞増殖促進剤のスクリーニング方法を提供する。

また、本発明は、WNT-5Aの機能を阻害する物質を選択する方法であって、下記(a)～(c)の工程を含むことを特徴とする毛乳頭細胞増殖促進剤のスクリーニング方法である。

- (a) ヒト WNT-5A 発現細胞を被検化合物を添加した培地を用いて培養する工程：
(b) 工程 (a) で培養したヒト WNT-5A 発現細胞を溶解して RNA を抽出し、WNT-5A mRNA 量を測定する工程：及び
(c) 工程 (b) で測定した WNT-5A mRNA 量を比較する工程。

図面の簡単な説明

図 1 は、毛乳頭細胞に WNT-5A mRNA が発現していることを示す電気泳動図を表す。

図 2 は、被検化合物が毛乳頭細胞において WNT-5A mRNA 量を減少させることを示す電気泳動図を表す。

図 3 は、被検化合物が毛乳頭細胞の増殖促進活性を有することを示すグラフを表す。

図 4 は、サル皮膚器官培養における WNT-5A mRNA の減少を示す電気泳動図である。

図 5 は、サル皮膚器官培養における休止期毛包及び成長期毛包の PCNA 染色の結果を表す。

図 6 は、化合物 7 がサル皮膚器官培養における毛球部径を増大させることを示すヒストグラムを表す。

図 7 は、化合物 3 がサル皮膚器官培養における毛球部径を増大させることを示すヒストグラムを表す。

図 8 は、ベニガオザル発毛試験における 6 ヶ月間塗布前後の皮膚拡大写真を表す。

発明の実施の形態

以下、本発明を更に具体的に説明する。

<WNT-5A の機能を阻害する化合物>

本発明において「WNT-5A の機能を阻害する化合物」（以下、「WNT-5A 機能阻害剤」ということがある。）とは、WNT-5A と WNT-5A 受容体の結合を阻害する化合物、又は、WNT-5A の産生を抑制する化合物を意味し、好ましくは WNT-5A の産

生を抑制する化合物である。

WNT-5Aは、ヒト、マウス、ラット、アフリカツメガエル等でその発現が確認されているWNTファミリーに属する分泌性糖蛋白質であるが、医薬品として使用する点からヒトのWNT-5A（配列番号1）機能を阻害する化合物が好ましい。

WNT-5AとWNT-5A受容体の結合を阻害する化合物とは、WNT-5A又はWNT-5A受容体に作用することによりWNT-5AとWNT-5A受容体の結合を阻害し、WNT-5Aによるシグナル伝達を抑制するものを意味し、好ましくは Ca^{2+} 経路を介したシグナル伝達を抑制する化合物であり、例えば、WNT-5A受容体アンタゴニストを挙げることができる。WNT-5A受容体としては、具体的には例えば、ヒトFrizzled5（配列番号4）、ラットFrizzled2（配列番号6）を挙げることができる。当該化合物は、ペプチド性でも非ペプチド性でもよいが、作用時間が長い利点がある非ペプチド性の阻害剤が好ましい。また、当該化合物は、標識したWNT-5A及びWNT-5A受容体を用いたスクリーニング系により選択することができ、好ましくは IC_{50} が $30\mu\text{M}$ 以下のものであり、更に好ましくは $10\mu\text{M}$ 以下のものである。

WNT-5A産生を抑制する化合物とは、WNT-5A遺伝子の発現を抑制する化合物を意味する。当該化合物は、ペプチド性でも非ペプチド性でもよいが、作用時間が長い利点がある非ペプチド性の阻害剤が好ましい。また、当該化合物は、WNT-5A蛋白質量（配列番号1）又はWNT-5A mRNA量（配列番号2）の減少を指標として選択することができ、好ましくはHartleyらの方法（Drug Metabolism and Disposition 28(5), 608-616 (2000)、後述する試験例4）に準じた核酸プローブアッセイ方法により IC_{50} が $30\mu\text{M}$ 以下のものであり、更に好ましくは $10\mu\text{M}$ 以下のものである。

特に好ましくは、式（I）、（II）及び（IX）で表される化合物である。

式（I）、（II）及び（IX）で表される化合物において C_{1-6} アルキル基とは、炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状のアルキル基を意味し、具体的には、例えばメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基、2-エチルプロピル基、ヘキシル基等が挙げられる。

C₁₋₆アルカノイル基とは、炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状のアルカノイル基を意味し、具体的には、例えばアセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、*t*-ブチリル基等を挙げることができる。

C₁₋₆アルコキシ基とは、炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状のアルコキシ基を意味し、具体的には、例えばメトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、イソブトキシ基、*sec*-ブトキシ基、*tert*-ブトキシ基、ペンチロキシ基、イソペンチロキシ基、ネオペンチロキシ基、*tert*-ペンチロキシ基、1-メチルブトキシ基、2-メチルブトキシ基、1, 2-ジメチルプロポキシ基、ヘキシロキシ基、イソヘキシロキシ基等が挙げられる。

C₁₋₆アルコキシイミノ基とは、炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状のアルコキシイミノ基を意味し、具体的には、例えばN-メトキシイミノ基、N-エトキシイミノ基、N-プロポキシイミノ基、N-イソプロポキシイミノ基、N-ブトキシイミノ基、N-イソブトキシイミノ基、N-ペンチルオキシイミノ基、N-ヘキシルオキシイミノ基等が挙げられる。

C₁₋₆アルカノイルオキシ基とは、炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状のアルカノイルオキシ基を意味し、具体的には、例えばアセトキシ基、プロピオニルオキシ基、ピバロイルオキシ基等が挙げられる。

C₃₋₁₀シクロアルキル基とは、炭素数3～10のシクロアルキル基を意味し、具体的には、例えばシクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基、シクロオクチル基、シクロノニル基等が挙げられる。

置換C₃₋₁₀シクロアルキル基の例としては、シクロアルキル基の水素原子をハロゲン原子、置換若しくは無置換のC₁₋₁₀アルキル基、水酸基、C₁₋₆ヒドロキシアルキル基、カルボキシ基、メルカプト基、インドリル基、C₁₋₆アルキルチオ基、アミノ基、アミド基及びC₁₋₆アルコキシ基からなる群より選ばれた1つ以上の基で置換されたシクロアルキル基を挙げることができる。

アリール基の例としては、フェニル基、ナフチル基、アントラセン基等を挙げることができる。

置換アリール基の例としては、アリール基の水素原子をハロゲン原子、置換若しくは無置換の C_{1-10} アルキル基、水酸基、 C_{1-5} ヒドロキシアルキル基、カルボキシル基、メルカプト基、インダゾリル基、インドリル基、 C_{1-5} アルキルチオ基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、アミド基、アセチルアミノ基及び C_{1-5} アルコキシ基からなる群より選ばれる1つ以上の基で置換されたアリール基を挙げることができる。

C_{2-10} ヘテロ環の例としては、フラン、ピロール、チオフェン、オキサゾール、イソオキサゾール、チアゾール、イミダゾール、ピラゾール、ピラン、ピリジン、ピペリジン、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン、キノリン等を挙げることができる。

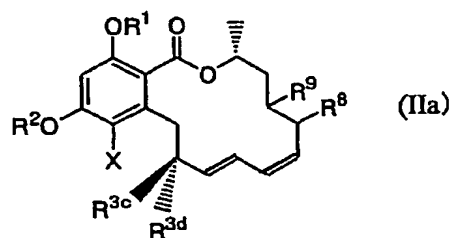
置換 C_{2-10} ヘテロ環の例としては、ヘテロ環の水素原子をハロゲン原子、置換若しくは無置換の C_{1-10} アルキル基、水酸基、 C_{1-5} ヒドロキシアルキル基、カルボキシル基、メルカプト基、インダゾリル基、インドリル基、 C_{1-5} アルキルチオ基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、アミド基、アセチルアミノ基及び C_{1-5} アルコキシ基からなる群より選ばれる1つ以上の基で置換されたヘテロ環を挙げることができる。

エーテル結合とは、 $-O-$ 、式 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-$ （式中、 m 及び n はそれぞれ1～3の整数を表し、式中のアルキレン基はアルキル基で置換されていてもよい。）又は、式 $-O-(CH_2)_m-O-$ （式中、 m は1～3の整数を表し、式中のアルキレン基はアルキル基で置換されていてもよい。）を意味する。

パイ結合又はエーテル結合を形成する隣り合う基の組み合わせとしては、 $(R^4$ と $R^5)$ 、 $(R^5$ と $R^6)$ 、 $(R^6$ と $R^7)$ 、 $(R^7$ と $R^8)$ 及び $(R^8$ と $R^9)$ を挙げることができる（式（IX）における R^{4a} ～ R^{9a} も同様）。

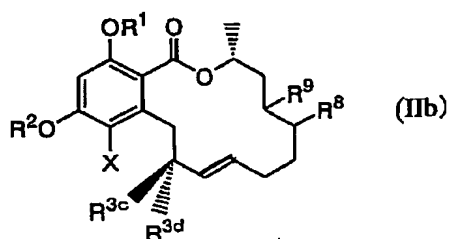
式（IX）で表される化合物の中でより好ましくは式（I）で表される化合物であり、更に好ましくは R^{3a} が水素原子であり、 R^{3b} は水酸基である化合物である。また、化合物の安定性の点から、式（IIa）、式（IIb）、式（IIc）で表される化合物が好ましい。

[式 (II) において (R^4 と R^5) 及び (R^6 と R^7) がパイ結合を形成する化合物]



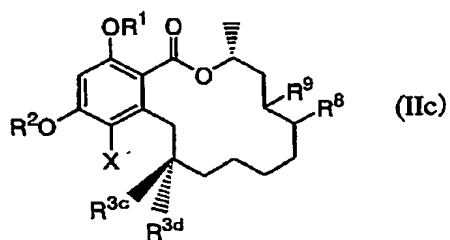
(式中、 R^1 、 R^2 、 R^{3c} 、 R^{3d} 、 R^8 、 R^9 及び X は前記と同意義である。)

[式 (II) において (R^4 と R^5) がパイ結合を形成し、 R^6 及び R^7 は水素原子である化合物]



(式中、 R^1 、 R^2 、 R^{3c} 、 R^{3d} 、 R^8 、 R^9 及び X は前記と同意義である。)

[式 (II) において、 R^4 、 R^5 、 R^6 及び R^7 が水素原子である化合物]



(式中、 R^1 、 R^2 、 R^{3c} 、 R^{3d} 、 R^8 、 R^9 及び X は前記と同意義である。)

また、式 (IX) で表される化合物のうち R^{3e} と R^{6b} が一緒になってエーテル結合を形成し、(R^{3f} と R^{4a}) 及び (R^{5a} と R^{6a}) がパイ結合を形成する化合物 (

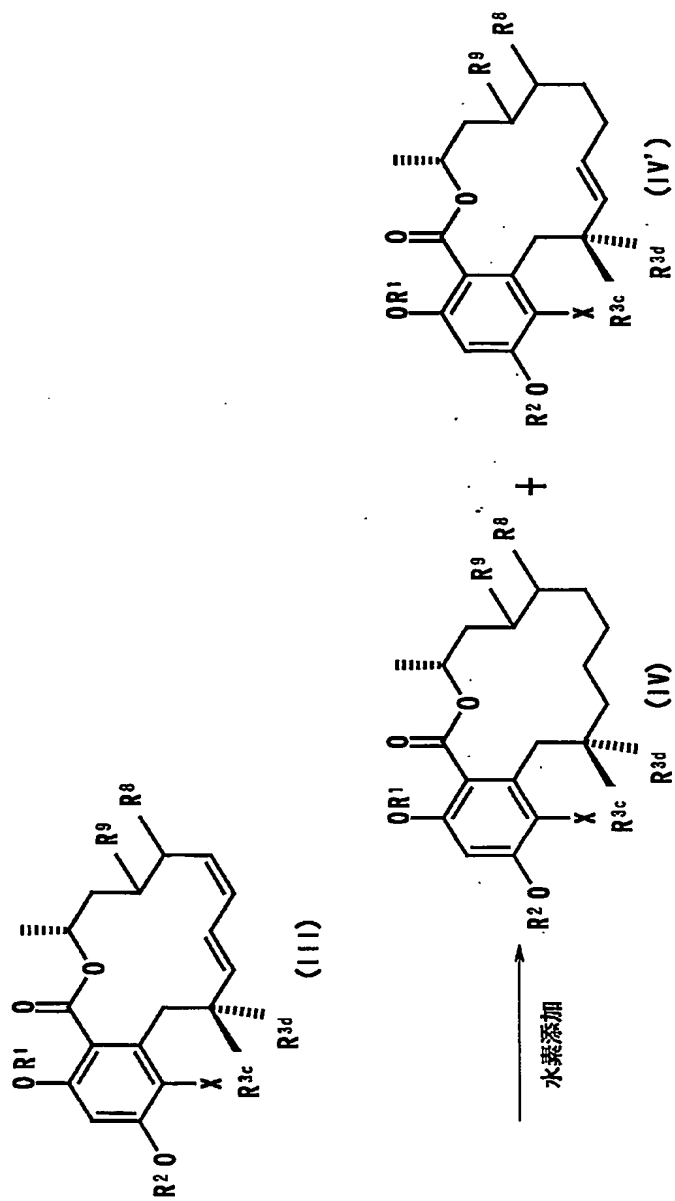
例えば化合物77など)は、毛乳頭細胞におけるWNT-5A mRNAの発現を効果的に抑制し、毛乳頭細胞の増殖を促進する点で好ましい。

また、式(IX)で表される化合物のうち R^{1a} 、 R^{2a} が、 $(CH_2)_pCO-Y-R^{10}$ (式中、Yは酸素原子又は硫黄原子を示し、 R^{10} は水素原子、 C_{1-6} アルキル基又は置換若しくは無置換のアリール基を示し、pは0又は1を示す。)で表される基である化合物(例えば化合物52など)や COR^{12} (式中、 R^{12} は置換若しくは無置換のアリール基又は置換若しくは無置換のヘテロ環を示す。)で表される基である化合物(例えば化合物58など)は、毛乳頭細胞におけるWNT-5A mRNAの発現を効果的に抑制し、毛乳頭細胞の増殖を促進する点で好ましい。

また、 R^{7a} が $Z-R^{13}$ (式中、Zは酸素原子又は硫黄原子を示し、 R^{13} は C_{1-6} アルカノイル基又は置換若しくは無置換のアリール基を示す。)で表される基である化合物(例えば化合物53など)は、毛乳頭細胞におけるWNT-5A mRNAの発現を効果的に抑制し、毛乳頭細胞の増殖を促進する点で好ましい。

式(II)で表される化合物は、例えば、以下の製法を組み合わせることにより製造することができる。

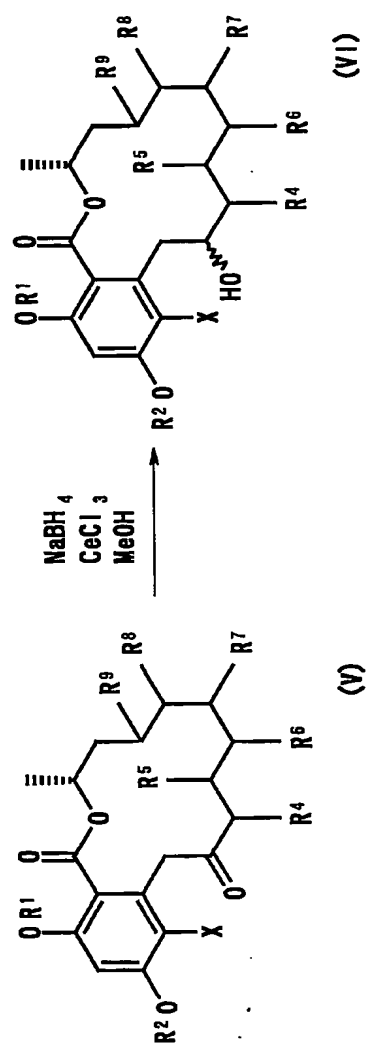
反応式 1



(式中、 R^1 、 R^2 、 R^{3c} 、 R^{3d} 、 R^8 、 R^9 及びXは前記と同意義である。)

式(III)の化合物をパラジウム炭素などの触媒存在下、有機溶媒(例えば、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、エチルアルコール、メチルアルコールなど)中、水素添加反応を行い、式(IV)若しくは式(IV')の化合物、あるいはこれらの混合物を得る。これらの式(IV)及び式(IV')の化合物はカラムクロマトグラフィーなど通常用いられる分離法にて分離精製することができる。

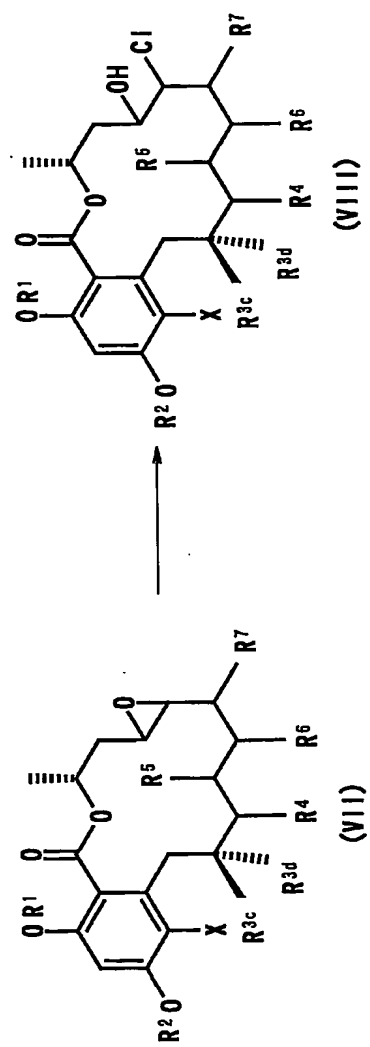
反応式 2



(式中、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 及び X は前記と同意義である。
。)

式 (V) の化合物を水素化ホウ素カリウム、水素化ホウ素ナトリウム、水素化ホウ素リチウムなどの還元剤と、必要に応じて $LiCl$ 、 $MgCl_2$ 、 $CeCl_3$ 、 $CaCl_2$ 、 $NiCl$ 等の塩類の共存下有機溶媒 (例えば、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、エチルアルコール、メチルアルコールなど) 中、 $-20 \sim 100^\circ C$ 、好ましくは $0 \sim 20^\circ C$ で反応させ、式 (VI) の化合物を得る。式 (VI) の化合物はカラムクロマトグラフィーなど通常用いられる分離法にて分離精製することができる。

反応式 3



(式中、 R^1 、 R^2 、 R^{3c} 、 R^{3d} 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 及びXは前記と同意義である。)

式(VII)の化合物を適当な有機溶媒(例えば、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、エチルアルコール、メチルアルコールなど)中、酸又は塩基で処理することにより、式(VIII)の化合物を得る。

また、式(IX)で表される化合物(1, 60~78)の生産は、大略一般の発酵生産物を生産する場合に準じ、各種の栄養物を含む培地で

Pochonia chlamydosporia var. *chlamydosporia* TF-0480株を好氣的条件下で培養することにより行う。

培地は主として液体培地を用い、炭素源、窒素源、無機塩よりなり、必要に応じてビタミン類、先駆物質及び消泡剤を加えることができ、pHは7前後に調整する。炭素源としては、例えばグルコース、デキストリン、グリセリン、澱粉などを単独又は混合して用いる。窒素源としては、例えば肉エキス、オートミール、酵母エキス、大豆粉、ポリペプトン、コーンステープ・リカー、尿素、アンモニウム塩などを単独又は混合して用いる。無機塩としては、例えばリン酸一カリウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、炭酸カルシウムなどを単独又は混合して用いる。消泡剤としてはアデカノール、シリコン化合物を用いることができる。培養方法は振とう培養、通気攪拌培養などの好氣的培養が適しており、pH 4~10、25~35℃で2~5日間、望ましくは25~28℃で3日間培養する。

この培養により生産された1, 60~78を単離するには、発酵生産物を採取する一般的な方法に準じて行えばよい。例えば次のような方法が効果的である。すなわち、培養終了後遠心分離又は濾過により培養濾液を得、ダイヤイオンHP-20(商品名、三菱化学社製)などのポリスチレン樹脂に吸着させた後、低級アルコール、アセトンなどの有機溶媒で溶出させる。菌体は低級アルコール、アセトンなどの有機溶媒で抽出する。次いでこの菌体抽出液及び吸着樹脂からの溶出液を合わせて減圧濃縮し、残った水層に酢酸エチル、クロロホルム、n-ブタノールなどの有機溶媒を加え抽出し、抽出液を濃縮する。得られた残渣を再度ベン

ゼン、酢酸エチル、アセトン、メタノール、クロロホルムなどの有機溶媒に溶解し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー及び逆層分配用ODSを充填したカラムクロマトグラフィー及び高速液体クロマトグラフィーを行うことにより本発明化合物を精製単離することができる。

本発明の有効成分を生産する菌株は、本発明者らが土壌から新たに分離した菌株であり、微生物の名称「ポコニア クラミドスポリア パラエティー クラミドスポリア TF-0480 (*Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* TF-0480)」及び微生物寄託番号「FERM BP-8332」として、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センター（日本国茨城県つくば市東1丁目1番地1中央第6）に2003年3月14日に寄託されている。

この菌株の菌学的性状を以下に示す。

1) 培地上での生育状態

本菌は、各種寒天平板培地上で良好な生育を示し、試験した培地上で良好又は中程度に胞子を形成する。各種培地上、26℃、2週間で形成したコロニーの特徴を次の表1に示した。なお色の表示は、A.Kornerupら著『Dizionario dei colori』Musterschmidt(1978年)のカラーコードを引用した。

表1

培地	コロニーの肉眼的観察結果
PDA * -1	生育及び孢子形成は比較的良好、コロニー径は23-28mm。コロニーは羊毛状、中心付近がフェルト状、やや盛り上がり、わずかに放射状のしわを生じる。周縁(コロニー先端部)はやや不規則となる。培地中にわずかに淡黄色(light yellow[3A6])の色素を分泌する。コロニー表面の色調は周縁付近で白色(white[1A1])、中心付近は淡黄色(pale yellow[4A3])を呈する。裏面は周縁付近が赤黄色(reddish yellow[4A6])、中心付近は黄褐色(Yellowish brown[5D8])を呈し、放射状または不規則に寒天培地が裂ける。
OMA * -2	生育及び孢子形成は良好、コロニー径は48-50mm。コロニーの中心付近と中間部分が盛り上がり、やや希薄な羊毛状を呈する。周縁は比較的整い、色素の分泌は認められない。コロニー表面の色調は周縁付近で白色(white[1A1])、中心付近は淡黄色(light yellow[3A4])を呈する。裏面は表面と同じ淡黄色(light yellow[3A4])を呈する。
CMA * -3	生育は良好だが孢子形成は中程度、コロニー径は47-51mm。コロニーは希薄なフェルト状を呈する。周縁は比較的整い、培地中への色素分泌は認められない。コロニーの色調は表裏共、白色(white[1A1])から黄白色(yellowish white[1A2])を呈する。
MA * -4	生育及び孢子形成は比較的良好、コロニー径は26-27mm。コロニーの中心付近は盛り上がり、厚みのある羊毛状を呈する。周縁は比較的整い、培地中にわずかに赤黄色(reddish yellow[4A7])の色素を分泌する。コロニー表面の色調は周縁付近で白色(white[1A1])、中心付近は淡黄色(pale yellow[4A3])を呈する。裏面は周縁付近が淡オレンジ色(light orange[5A4])、中心付近は褐色(brown[7E8])、中間部分がオレンジ色(orange[6B7])を呈する。
SA * -5	生育及び孢子形成は比較的良好、コロニー径は23-28mm。コロニーの中心付近が盛り上がり、厚みのある羊毛状を呈する。周縁はやや不規則、わずかに放射状のしわを生じる。培地中に赤黄色(reddish yellow[4A7])の色素を分泌する。コロニー表面の色調は周縁付近で白色(white[1A1])、他はオレンジ白色(orange white[5A2])を呈する。裏面は周縁および中心付近が淡オレンジ色(light orange[5A4])、中間部分が褐色(brown[7E8])を呈し、放射状に寒天培地が裂ける。
LCA * -6	生育は良好だが孢子形成は中程度、コロニー径は42-44mm。コロニーは希薄なフェルト状からわずかに羊毛状を呈する。周縁は比較的整い、培地中への色素分泌は認められない。コロニーの色調は表裏共、白色(white[1A1])を呈する。

*-1: ポテト・デキストロース寒天培地(栄研化学㈱製、E-MF21)

*-2: 1/2希釈オートミール寒天培地(ディフコ社製、バクトオートミール寒天を1/2希釈で調製し、最終寒天濃度が2%になるように寒天を追加)

*-3: コーンミール寒天培地(ディフコ社製、コーンミール寒天)

*-4: 麦芽エキス寒天培地(Nakase, T., 6th ed., pp.617, Japan Collection of Microorganisms, the Institute of Physical and Chemical Research, Saitama, 1995)

*-5: サブロー寒天培地(栄研化学㈱製、E-MF03)

*-6: 三浦寒天培地(Miura, K. and M.Kudo, Trans. Mycol. Soc. Japan, 11:116-118, 1970)

2) 形態

本菌がコーンミール寒天平板上、26℃、14日間の培養で形成したコロニーを、光学顕微鏡にて観察した結果、分生子形成様式はフィアロ型であった。分生子形成細胞（フィアライド）は菌糸上に直接単生又は2～4個が輪生状に生じる、分生子柄は栄養菌糸との区別が不明瞭であった。分生子はフィアライドの先端で複数個形成され、粘塊状となる。フィアライドは先端部分が先細りの円筒形で、表面は平滑、無色、長さは13–35 μm 、太さは基部で0.8–1.7 μm 、先端付近では0.5–0.8 μm である。分生子は、楕円形から、まれに亜球形で、多くは基部がわずかに突出する。表面は平滑、無色、大きさは2.2–5.0 \times 1.8–2.8 μm である。また、培地表面や培地上の菌糸から生じた短い柄の先端に淡黄色、多細胞、網状隔壁を有する厚膜孢子（ディクティオクラミドスポア）を単生する。わずかではあるが厚膜孢子は培地中でも形成される。厚膜孢子の大きさは、14–20 \times 12–22 μm である。なお、培養を1カ月以上延長してもテレオモルフの形態は認められなかった。

3) 生理的性質

①生育温度範囲及び最適温度

本菌株はpH6.0のサブロー液体培地において、15–31℃の範囲で生育し、最適温度は25–27℃である。

②生育pH範囲及び最適pH

本菌株はYpSs液体培地中26℃においてpH3–10の範囲で生育し、最適pHは5–7である。

4) 好気性、嫌気性の区別 ; 好気性

上記の形態的特徴及び培養上の性状から、① K.H.Domschら著『Compendium of soil fungi Vol.1』IHW-Verlag (1980年)、及び② G.L.Barron著『The Genera of Hyphomycetes from soil』Williams & Wilkins (1968年)等に記載された多くの既知種と本菌の特徴を比較検討した結果、*Verticillium chlamydosporia*や*Diheterospora chlamydosporia*の分類名称で知られる不完全菌の一菌種と極めて良く一致しており、同一種であることが示唆された。なお、本菌種は、③

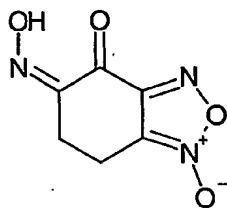
R. Zare, W. Gams and H.C. Evans 『A revision of Verticillium section Prostata. V. The genus Pochonia, with notes on Rotiferophthora』 73, 1-2, p51-86 (2001年) により分子系統学的な再検討が行われ、Pochonia属を正式属名として再記載されており、さらに本菌のようにVerticillium型分生子が連鎖しない菌種に対し、Pochonia chlamydosporia var. chlamydosporiaなる変種名が提唱されている。

以上のことから、本菌株を「ポコニア クラミドスポリア バラエティー クラミドスポリア TF-0480 (Pochonia chlamydosporia var. chlamydosporia TF-0480)」と命名した。

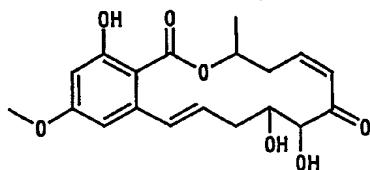
<毛乳頭細胞増殖促進剤>

本発明において「毛乳頭細胞増殖促進剤」とは、毛乳頭細胞の数を増加させる作用を有する医薬又は試薬を意味する。

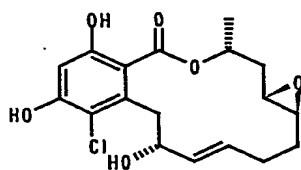
本発明の毛乳頭細胞増殖促進剤は、WNT-5A機能の阻害作用に基づくことを特徴とする。WNT-5Aは、WNT/ β -catenin経路が活性化するWNT-1 classのWNTs(1, 8など)の機能を抑制することから、WNT-5Aの機能の調整あるいはWNT-5Aの発現を調整することにより毛乳頭細胞の増殖を制御する。したがって、優れたWNT-5A機能の阻害作用を有すれば、全く構造の異なる化合物(例えば、化合物24、化合物79、化合物7など)であっても、優れた毛乳頭細胞増殖促進作用を有する。



化合物24



化合物79



化合物7

細胞の増殖は、当業者に公知の方法により測定することが可能であり、例えば適当な発色基質を用いた生細胞数計測、 $[3H]$ -チミジン取り込み法等を挙げることができる。発色基質としては、MTT、MTS、XTT等のテトラゾリウム塩やアラマーブルーを用いることが好ましい。

<発毛剤／育毛剤>

本発明において「発毛剤又は育毛剤」とは、発毛誘導、毛成長促進、脱毛予防などの目的で使用されるものである。本発明の発毛剤／育毛剤を医薬として用いる場合、適用対象としては、例えば円形脱毛症や男性型脱毛症の改善あるいは予防などを挙げることができる。

また、本発明の発毛剤／育毛剤の効果は、WNT-5A機能の抑制に基づく毛乳頭細胞増殖促進作用によるものである。かかる作用機序により脱毛部毛乳頭において低下している細胞増殖能を亢進し、発達した毛乳頭組織を形成するため、これまでの育毛剤／発毛剤では効果がえられなかった症状にも有効であることが予想される。

さらに他の作用点を有する発毛剤、育毛剤との組み合わせにより相乗的な効果を期待できる。

本発明の発毛剤／育毛剤は、それぞれの化合物に基づき、種々の投与量及び投与形態で投与することができる。

投与量は、育毛剤の種類、投与形態により異なるが、例えば、式(IX)で表される化合物を塗布投与（ローション剤、軟膏剤、ゲル剤等）する場合、0.0001～10重量％で投与することができ、好ましくは0.001～5重量％、更に好ましくは0.001～1重量％である。また、式(IX)で表される化合物を成人男性に経口投与（散剤、錠剤又はカプセル剤）する場合は、1～100mg/kg/日とすることが好ましい。

本発明の発毛剤／育毛剤の投与形態は特に限定されるものではないが、外用での使用では、WNT-5A産生抑制剤、例えば式(IX)で表される化合物、を有効成分とする発毛剤／育毛剤は、水溶性組成物の形態で提供されることが好ましい。このような水溶性組成物の製造には、本発明の効果を損なわない限り医薬品、医薬部外品又は化粧品の製造に用いられる各種の添加物（保湿剤、増粘剤、防腐剤、酸化防止剤、香料、色剤等）を配合することができる。本発明の発毛剤／育毛剤は、例えばヘアトニック、ヘアオイル、ヘアムース、ゲルなどの調髪用組成物、軟膏などとして提供することが可能である。

本発明の発毛剤及び育毛剤を液剤とする場合には、WNT-5A産生抑制剤、例えば式(IX)で表される化合物、を精製水、リン酸緩衝液等の適当な緩衝液、生理的食塩水、リンガー溶液、ロック溶液等の生理的塩類溶液、エタノール、グリセリン及び慣用される界面活性剤等と適当に組み合わせた滅菌された水溶液、非水溶液、懸濁液、リポソーム又はエマルジョンとして調製され、頭皮用液状製剤として局所的に投与される。またその際、液状製剤を直接頭皮に塗布してもよく、スプレー等の射出ノズルを用いて塗布してもよい。

本発明の発毛剤及び育毛剤を半固形製剤とする場合には、WNT-5A産生抑制剤、例えば式(IX)で表される化合物を脂肪、脂肪油、ラノリン、ワセリン、パラフィン、蝟、硬膏剤、樹脂、プラスチック、グリコール類、高級アルコール、グリセリン、水、乳化剤、懸濁化剤等と混和して軟膏、クリーム等の外用として局所投与できる。

本発明の発毛剤及び育毛剤を固形製剤とする場合には、WNT-5A産生抑制剤、例えば式(IX)で表される化合物、を適当な添加剤と適宜混合して、散剤、粉剤等の外用剤として、又は、溶剤に用時溶解又は懸濁して頭皮に塗布するための固形製剤としてもよい。

また、経口での使用する場合には、WNT-5A産生抑制剤、例えば式(IX)で表される化合物、を製剤上許容しうる担体（賦形剤、結合剤、崩壊剤、矯味剤、矯臭剤、乳化剤など）、希釈剤、溶解補助剤などと配合して得られる医薬組成物を通常の方法に従って製剤して得られる錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロツ

ブ剤、懸濁剤、溶液剤などの形態で提供されることが望ましい。

なお、これらの製剤化は、通常の製剤化技術を使用することができる

<スクリーニング方法>

本発明はまた、WNT-5Aの機能を阻害する化合物を選択することを特徴とする、毛乳頭細胞増殖促進剤のスクリーニング方法である。

WNT-5Aの機能を阻害する化合物（以下、「WNT-5A機能阻害剤」ということがある。）を選択するとは、例えば、WNT-5A産生抑制剤を選択、即ちスクリーニングすることでもよく、また、WNT-5A受容体アンタゴニストを選択することでもよい。

本発明のスクリーニング方法に供される被検物質としては、任意の物質を使用することができる。被検物質の種類は特に限定されず、個々の低分子化合物でよいし、天然物抽出物中に存在する化合物でもよく、合成ペプチドでもよい。また、化合物ライブラリー、コンビナトリアルライブラリーであってもよい。化合物ライブラリーの構築は当業者に公知であり、また市販の化合物ライブラリーを使用することもできる。スクリーニングの対象とする化合物は、医薬品として用いる観点から分子量3000以下であることが好ましく、塗布／経口投与を可能とする観点から、分子量600以下の低分子化合物であることが好ましい。

①WNT-5A受容体アンタゴニストのスクリーニング方法

WNT-5A受容体アンタゴニストのスクリーニング方法において、標識したWNT-5A蛋白質及びWNT-5A受容体を用いて、該標識を検出又は測定することにより、WNT-5A蛋白質とWNT-5A受容体の結合の形成の有無を調べてもよい。標識としては、放射性同位元素（ ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 等）、酵素（アルカリフォスファターゼ、ホースラディッシュペーパーオキシターゼ等）、蛍光物質（フルオロセインイソチオシアネート等）等を挙げることができる。これらは市販のものを入手することができ、公知の方法によって標識される。

*in vitro*のアッセイ系の1つの具体例は、非細胞系において行われる。具体的にはWNT-5A蛋白質又はWNT-5A受容体のいずれか一方を支持体に結合させ、ここにもう一方と被検物質を加え、インキュベートした後洗浄して支持体に結合した

蛋白質に対するもう一方の蛋白質の結合を検出又は測定すればよい。

蛋白質を結合させる支持体としては、例えば不溶性の多糖類、例えば、アガロース、デキストラン、セルロース、合成樹脂、例えばポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等が挙げられる。より具体的にはそれらを原料として製造される市販のビーズ、プレートが用いられる。

②WNT-5A産生抑制化合物のスクリーニング方法

WNT-5A産生抑制化合物のスクリーニングは、WNT-5A mRNA量又はWNT-5A蛋白質量を指標として行うことができる。また、WNT-5A遺伝子のプロモーター領域にレポーター遺伝子を連結して発現量を検出することもできる。WNT-5A遺伝子のプロモーターとしては、配列番号3を使用することが好ましい。

レポーター遺伝子としては、例えば、GFP遺伝子（Green Fluorescent Protein）、GUS遺伝子（ β -Glucuronidase）、LUC遺伝子（Luciferase）、CAT（Chloramphenicol acetyltransferase）遺伝子 を挙げることができる。

WNT-5A mRNA量を指標とした場合としては、例えば、ヒトWNT-5A発現細胞を用い、被検物質を添加し、37℃、5%CO₂-95%airのインキュベータ内で数時間培養後、細胞を溶解してRNAを抽出し、RT-PCRなどを用いてWNT-5A mRNA量を測定することにより、WNT-5A mRNA量を減少させる活性を有する物質を探索することができる。PCRに用いるプライマーとしては、WNT-5A mRNAに特異的なものであれば特に制限はなく、WNT-5A mRNAの配列から設計することができるが、好ましくは、Forward Primer AATGTCTTCCAAGTTCTTCCTAGTGGC（配列番号8）及び Reverse Primer GATGTCGGAATTGATACTGGCA（配列番号9）である。

WNT-5A 蛋白質量を指標とした場合としては、例えば、ヒトWNT-5A発現細胞を用い、被検物質を添加し、37℃、5%CO₂-95%airのインキュベータ内で数時間培養後、培養培地を用いて又は細胞を溶解して蛋白質を抽出し、ELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）等を用いてWNT-5A 蛋白質量を測定することにより、WNT-5A 蛋白質発現量を減少させる活性を有する物質を探索することができる。

以下、実験例に基づき本発明を更に説明するが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。

実施例 1 (化合物 3、4)

ラディシコール(化合物 1 : 10.8g)を酢酸エチル(140ml)に溶解し、5%パラジウム炭素(ウェットタイプ)(255mg)を加え、水素置換(1気圧)し室温で3時間攪拌した。パラジウム炭素を濾過後、濾液を減圧留去した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィーにて精製し、n-ヘキサン：酢酸エチル=2 : 1で溶出させることで、目的化合物 4 (3.43g)を得、n-ヘキサン：酢酸エチル=3 : 2で溶出させることで、目的化合物 3 (4.14g)を得た。

実施例 2 (化合物 7、8)

化合物 3 (602.5mg)をメタノール(13ml)に溶解し、塩化セリウム(III) 7水和物(2.14g)を加え、室温で30分間攪拌した。この溶液に水素化ホウ素ナトリウム(180mg)を氷冷しながら徐々に加えた後、室温で5分間攪拌した。反応液に飽和リン酸水素二ナトリウム(40ml)を加え水(40ml)で希釈した後、有機溶媒を減圧留去した。残った水層を酢酸エチル(300ml×2)で抽出し、得られた酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。残渣をシリカゲル分取薄層クロマトグラフィー(20cm×20cm, 1.0mm厚、クロロホルム：メタノール=9 : 7で展開、酢酸エチルで溶出)により粗精製した。得られた粗精製物を高速液体クロマトグラフィー(20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水(酢酸添加、pH3.5)：アセトニトリル=65 : 35で溶出)により精製し、目的化合物(化合物 7 : 144.9mg、化合物 8 : 13.8mg)を得た。

実施例 3 (化合物 9, 10)

化合物 4 (26.5mg)をメタノール(5ml)に溶解し、塩化セリウム(III) 7水和物(100mg)を加え、室温で30分間攪拌した。この溶液に水素化ホウ素ナトリウム(60mg)を氷冷しながら徐々に加えた後、室温で30分間攪拌した。反応液に飽和リン酸水素二ナトリウム(12ml)を加え水(20ml)で希釈した後、有機溶媒を減圧留去した。残った水層を酢酸エチル(30ml×2)で抽出し、得られた酢酸エチル層を無水

硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。残渣をシリカゲル分取薄層クロマトグラフィー（20cm×20cm, 0.25mm厚、クロロホルム：メタノール＝94：6で展開、酢酸エチルで溶出）により精製し、目的化合物（化合物9：5.7mg、化合物10：8.8mg）を得た。

実施例4（化合物5）

ラディシコール(91.5mg)をメタノール(5ml)に溶解し、塩化セリウム(III) 7水和物(88mg)を加え、室温で10分間攪拌した。この溶液に水素化ホウ素ナトリウム(60mg)を氷冷しながら徐々に加えた後、室温で30分間攪拌した。反応液に飽和リン酸水素二ナトリウム(20ml)を加え水(20ml)で希釈した後、有機溶媒を減圧留去した。残った水層を酢酸エチル(50ml×3)で抽出し、得られた酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。残渣をシリカゲル分取薄層クロマトグラフィー（20cm×20cm, 0.5mm厚、クロロホルム：メタノール＝9：1で展開、酢酸エチルで溶出）により精製し、目的化合物5(27.2mg)を得た。

実施例5（化合物2）

ラディシコール(15.3mg)をピリジン(1.5ml)に溶解し、無水酢酸(4ml)を加え室温で6.5時間攪拌した後、反応液に氷水(20ml)を加え酢酸エチル(20ml)で抽出した。酢酸エチル層を水(20ml×2)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣をシリカゲル分取薄層クロマトグラフィー（20cm×20cm, 0.5mm厚、クロロホルム：メタノール＝95：5で展開、酢酸エチルで溶出）により精製し、目的化合物2(18.5mg)を得た。

実施例6（化合物11）

ラディシコール(19.0mg)をジメチルスルホキシド(1ml)に溶解し、炭酸カリウム(3mg)とヨウ化メチル(4ml)を加え室温で6.5時間攪拌した。反応液に水(20ml)を加え酢酸エチル(20ml)で抽出し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣をシリカゲル分取薄層クロマトグラ

フィー（20cm×20cm, 0.5mm厚、クロロホルム：メタノール=95：5で展開、酢酸エチルで溶出）により精製し、目的化合物11（15.3mg）を得た。

実施例7（化合物16、17、19、23）

ラディシコール（930mg）を1,4-ジオキサン（14ml）に溶解し、1規定塩酸（12ml）を加え室温で2時間攪拌した後、水（40ml）で希釈し酢酸エチル（100ml）で抽出した。酢酸エチルを無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣をシリカゲル分取薄層クロマトグラフィー（20cm×20cm, 1.0mm厚、クロロホルム：メタノール：n-ヘキサン=5：1：5で展開、酢酸エチルで溶出）により粗精製した。得られた粗精製物を高速液体クロマトグラフィー（20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水（酢酸添加、pH3.5）：アセトニトリル=70：30～40：60、グラジエントで溶出）により精製し、目的化合物（化合物16：11.4mg、化合物17：19.4mg、化合物19：32.6mg、化合物23：103.7mg）を得た。

実施例8（化合物12、13）

ラディシコール（232.6mg）を1,4-ジオキサン（4ml）に溶解し、1規定塩酸（1ml）を加え室温で30分間攪拌した後、1規定水酸化ナトリウムで中和した。溶媒を減圧濃縮後メタノールを20ml加えて溶解させ、綿栓濾過後メタノールを減圧留去した。得られた残渣を高速液体クロマトグラフィー（20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水（酢酸添加、pH3.5）：アセトニトリル=65：35で溶出）により精製し、目的化合物（化合物12：42.6mg、化合物13：10.4mg）を得た。

実施例9（化合物18）

5mlのジメチルホルムアミドに1mlのオキシ塩化リンを氷冷しながら滴下した後、室温で30分間攪拌した。この溶液をラディシコール（98.5mg）のジメチルホルムアミド溶液（4ml）に氷冷しながら徐々に加えた後、室温で24時間攪拌した。反応液を酢酸エチル（100ml）で希釈した後、水（100ml×3）で洗浄し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣をシリカゲル分取薄層クロマトグラフィー（20cm×20cm, 0.5mm厚、クロロホルム：

メタノール＝94：6で展開、酢酸エチルで溶出）により精製し、目的化合物（化合物18）（61.8mg）を得た。

実施例10（化合物14、15）

ラディシコール(378mg)を1,4-ジオキサン(4ml)に溶解し、1規定塩酸(1ml)を加え室温で20分間攪拌した後、1規定水酸化ナトリウムで中和した。溶媒を減圧濃縮後メタノールを20ml加えて溶解させ、綿栓濾過後メタノールを減圧留去した。得られた残渣を高速液体クロマトグラフィー（20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水（酢酸添加、pH3.5）：アセトニトリル＝70：30で溶出）により精製し、目的化合物（化合物14：10.7mg、化合物15：9.9mg）を得、同時に化合物12(40.6mg)も得られた。

実施例11（化合物20、21、22）

化合物3(96.3mg)を1,4-ジオキサン(2ml)に溶解し、1規定塩酸(2.5ml)を加え室温で16時間攪拌した後、1規定水酸化ナトリウムで中和した。溶媒を減圧濃縮後メタノールを20ml加えて溶解させ、綿栓濾過後メタノールを減圧留去した。得られた残渣を高速液体クロマトグラフィー（20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水（酢酸添加、pH3.5）：アセトニトリル＝45：55で溶出）により精製し、目的化合物（化合物20：9.3mg、化合物21：22.0mg、化合物22：26.2mg）を得た。

実施例12（化合物25、26）

化合物7(34mg)をN,N-ジメチルホルムアミド(2ml)に溶解し、水酸化カリウム(3mg)とヨウ化メチル(500μl)を加え室温で4.5時間攪拌した。反応液に水(20ml)を加え酢酸エチル(20ml)で抽出し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル－水(pH3.5、酢酸)（38：62）を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー〔カラム：YMC-Pack Pro C18 AS-343（20φ×250mm）、検出UV吸収254nm、流速10ml/min〕にて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物25(6.4mg, 39min)、化合物26(14.5mg, 29min)を得た。

実施例13 (化合物27)

化合物7(55mg)をピリジン(1ml)に溶解し、無水酢酸(3ml)を加えた後、室温で17時間攪拌した。反応液に水(50ml)を加え酢酸エチル(50ml)で抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)(60:40)を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム: YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、得られた画分を減圧濃縮して、化合物27(64.7mg, 18min)を得た。

実施例14 (化合物28、29)

化合物8(131mg)をN,N-ジメチルホルムアミド(2ml)に溶解し、水酸化カリウム(3mg)とヨウ化メチル(2ml)を加え室温で7時間攪拌した。反応液に水(40ml)を加え酢酸エチル(40ml)で抽出し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)(38:62)を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム: YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物28(14.2mg, 52min)、化合物29(31.7mg, 37min)を得た。

実施例15 (化合物30)

化合物8(72mg)をピリジン(2ml)に溶解し、無水酢酸(2ml)を加えた後、室温で17時間攪拌した。反応液に水(50ml)を加え酢酸エチル(50ml)で抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)(53:47)を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム: YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、得られた画分を減圧濃縮して、化合物30(45.5mg, 30min)を得た。

実施例16 (化合物31)

ラディシコール(10.8g)を酢酸エチル(140ml)に溶解し、5%パラジウム炭素（ウェットタイプ）(255mg)を加え、水素置換（1気圧）し室温で3時間攪拌した。パラジウム炭素を濾過後、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] にて精製し、n-ヘキサン：酢酸エチル（2：1）で溶出させることで、化合物4(3.43g)を得、またn-ヘキサン：酢酸エチル（3：2）で溶出させることで、化合物3(4.14g)を得た。化合物3と化合物4の間の画分(3.08g)の一部(500mg)を少量のN，N-ジメチルホルムアミドに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)（38：62）を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム：YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物3(177.8mg)とともに化合物31(20.7mg, 23min)を得た。

実施例17 (化合物32, 33, 34)

ラディシコール(11.9g)を酢酸エチル(160ml)に溶解し、5%パラジウム炭素（ウェットタイプ）(300mg)を加え、水素置換（1気圧）し室温で3時間攪拌した。パラジウム炭素を濾過後、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] にて精製し、n-ヘキサン：酢酸エチル（2：1）で化合物4を溶出させ、n-ヘキサン：酢酸エチル（3：2）で化合物3を溶出させた。さらにn-ヘキサン：酢酸エチル（1：1）で溶出した画分を減圧濃縮し、粗精製物(936mg)を得た。得られた粗精製物を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)（34：66）を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム：YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、3つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物32(17.4mg, 17min)、化合物33(49.4mg, 18min)及び化合物34(347.4mg, 21min)を得た。

実施例18 (化合物35)

ラディシコール(210mg)をピリジン(4ml)に溶解し、室温でヒドロキシルアミン塩

酸塩(180mg)を加えた後、40℃に昇温し2.5時間攪拌した。室温に戻した後、水(100ml)を加え酢酸エチル(80ml)で抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を分取薄層クロマトグラフィー [Silica Gel 60 F254 (商品名、Merck社製)、厚さ0.5mm] にてクロロホルム-メタノール (90:10) を展開溶媒として精製し、R_f値が0.65の部分を回収して酢酸エチルで抽出、減圧濃縮して化合物35 (40.0mg) を得た。

実施例19 (化合物36, 37, 38, 39)

ラディシコール(11.9g)を酢酸エチル(160ml)に溶解し、5%パラジウム炭素 (ウェットタイプ) (300mg) を加え、水素置換 (1気圧) し室温で3時間攪拌した。パラジウム炭素を濾過後、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] にて精製し、n-ヘキサン:酢酸エチル (2:1) で溶出した画分を減圧濃縮し、化合物4を主成分とする画分(1537mg)を得た。この画分をメタノール(21ml)/テトラヒドロフラン(7ml)に溶解し、塩化セリウム(Ⅲ) 7水和物(2130mg)を加え、室温で30分間攪拌した。この溶液に水素化ホウ素ナトリウム(790mg)を氷冷しながら徐々に加えた後、室温で10分間攪拌した。反応液を水(30ml)で希釈した後1規定塩酸水溶液を加えpHを中性にした後、さらに水(30ml)で希釈する。水層を酢酸エチル(100ml×2)で抽出し、得られた酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去し、ガム状物質(1.46g)を得た。得られた物質をクロロホルム-メタノール (4:1) の混合溶媒に溶解し、n-ヘキサンで湿潤させて調製したシリカゲル [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] のカラム (400ml) に吸着させた。n-ヘキサン-酢酸エチルの混合溶媒で順次溶出し、n-ヘキサン-酢酸エチル (2:1) で化合物4を溶出させた後、n-ヘキサン-酢酸エチル (3:2) で溶出し、画分 (1) (190mg)、画分 (2) (398mg) をそれぞれ減圧濃縮することで得た。画分 (1) を少量のテトラヒドロフランで溶解し、アセトニトリル-水 (pH3.5、酢酸) (35:65) を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム: YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、3つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して

、化合物9(87.2mg)とともに化合物36(11.3mg, 20min)、化合物38(10.1mg, 25min)を得た。また画分(2)を少量のテトラヒドロフランで溶解し、画分(1)と同条件で分取高速液体クロマトグラフィーにて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物37(19.8mg, 25min)、化合物39(23.2mg, 27min)を得た。

実施例20 (化合物40, 41)

化合物7(61mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(3ml)に溶解し、水酸化カリウム(5mg)と1-ブロモブタン(1ml)を加え室温で3.5時間撹拌した。反応液に水(20ml)を加え酢酸エチル(30ml)で抽出し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)を移動層として(60:40)~(90:10)のグラジエントをかけ、分取高速液体クロマトグラフィー[カラム:YMC-Pack Pro C18 AS-343(20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min]にて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物40(25.6mg, 33min)、化合物41(21.4mg, 40min)を得た。

実施例21 (化合物42, 43)

化合物7(67mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(3ml)に溶解し、水酸化カリウム(5mg)と1-ブロモヘキサン(1ml)を加え室温で3.5時間撹拌した。反応液に水(20ml)を加え酢酸エチル(30ml)で抽出し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)を移動層として(60:40)~(90:10)のグラジエントをかけ、分取高速液体クロマトグラフィー[カラム:YMC-Pack Pro C18 AS-343(20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min]にて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物42(24.9mg, 38min)、化合物43(32.9mg, 53min)を得た。

実施例22 (化合物44)

化合物7(62mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(3ml)に溶解し、水酸化カリウム(5mg)と1-ブロモプロパン(1ml)を加え室温で1.5時間撹拌した。反応液に水(20ml)を加え酢酸エチル(30ml)で抽出し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)を移動層として(45:55)~(85:15)のグラジエントをかけ、分取高速液体クロマトグラフィー[カラム:YMC-Pack Pro C18 AS-343(20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min]にて精製し、得られた画分を減圧濃縮して、化合物44(45.3mg, 38min)を得た。

実施例23(化合物45)

化合物7(64mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(3ml)に溶解し、水酸化カリウム(5mg)と2-(ブロモメチル)シクロヘキサン(2ml)を加え室温で7時間撹拌した。反応液に水(20ml)を加え酢酸エチル(30ml)で抽出し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)を移動層として(65:35)~(85:15)のグラジエントをかけ、分取高速液体クロマトグラフィー[カラム:YMC-Pack Pro C18 AS-343(20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min]にて精製し、得られた画分を減圧濃縮して、化合物45(24.7mg, 70min)を得た。

実施例24(化合物46)

化合物7(200mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(10ml)に溶解し、臭化水素酸(5ml)を加え110℃で6時間撹拌した。反応液に酢酸エチル(150ml)を加え炭酸水素ナトリウム(150ml×2)で洗浄し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去した。得られた残渣を少量のメタノールに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)を移動層として(38:62)~(50:50)のグラジエントをかけ、分取高速液体クロマトグラフィー[カラム:YMC-Pack Pro C18 AS-343(20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min]にて精製し、得られた画分を分取し減圧濃縮して、化合物46(17.0mg, 18min)を得た。

実施例25 (化合物47)

化合物62 (154mg) を酢酸エチル (5ml) に溶解し、5%パラジウム炭素 (ウェットタイプ) (30mg) を加え、水素置換 (1 気圧) し室温で90分間攪拌した。パラジウム炭素を濾過後、濾液を減圧濃縮して、化合物47 (134.8mg) を得た。

実施例26 (化合物48)

化合物61 (211mg) を酢酸エチル (11ml) に溶解し、5%パラジウム炭素 (ウェットタイプ) (42mg) を加え、水素置換 (1 気圧) し室温で90分間攪拌した。パラジウム炭素を濾過後、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣 (184mg) を分取薄層クロマトグラフィー [Silica Gel 60 F254 (商品名、Merck社製)、20cm×20cm、厚さ0.5 mm] にてクロロホルム-メタノール (95 : 5) を展開溶媒として精製し、Rf値が0.5の部分回収して酢酸エチルで抽出した後、減圧濃縮して化合物48 (159.7mg) を得た。

実施例27 (化合物49, 50)

化合物61 (233mg) をメタノール (10ml) / テトラヒドロフラン (2ml) に溶解し、塩化セリウム (Ⅲ) 7 水和物 (754mg) を加え、室温で30分間攪拌した。この溶液に水素化ホウ素ナトリウム (236mg) を氷冷しながら徐々に加えた後、室温で10分間攪拌した。反応液を水 (30ml) で希釈した後1 規定塩酸水溶液 (3ml) を加えpHを中性にした後、さらに水 (30ml) で希釈する。水層を酢酸エチル (100ml×2) で抽出し、得られた酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去し、白色粉末 (267mg) を得た。得られた粉末を少量のメタノールで溶解し、アセトニトリル-水 (pH3.5、酢酸) (45 : 55) を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム : YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物49 (49.3mg, 19min)、化合物50 (184.6mg, 21min) を得た。

実施例28 (化合物51)

化合物62 (191mg) をメタノール (10ml) / テトラヒドロフラン (4ml) に溶解し、塩化

セリウム(Ⅲ) 7水和物(641mg)を加え、室温で30分間攪拌した。この溶液に水素化ホウ素ナトリウム(216mg)を氷冷しながら徐々に加えた後、室温で10分間攪拌した。反応液を水(30ml)で希釈した後1規定塩酸水溶液(3ml)を加えpHを中性にした後、さらに水(30ml)で希釈する。水層を酢酸エチル(100ml×2)で抽出し、得られた酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチルを減圧留去し、無色油状物質(182mg)を得た。得られたオイルを少量のメタノールで溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)(30:70)を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー〔カラム:YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min〕にて精製し、得られた画分を減圧濃縮して、化合物51(137.3mg, 29min)を得た。

実施例29 (化合物52)

ラディシコール (205 mg)をアセトン (10 ml)に溶解し、S-クロロアセチルチオフェノール (330 mg)及び炭酸カリウム (310 mg)を加え、室温で1.5時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧乾固させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (20 g、酢酸エチル:n-ヘキサン= 1:2)により粗精製した。得られた粗精製物を高速液体クロマトグラフィー (20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水(酢酸添加、pH3.5):アセトニトリル=65:35で溶出)により精製し、化合物52(105 mg)を得た。

実施例30 (化合物53)

ラディシコール (406 mg)をN,N-ジメチルホルムアミド (6 ml)に溶かし、氷冷下トリエチルアミン (57.6 mg)及びチオフェノール (260 mg)を加え、引き続き氷冷下一晩攪拌した。反応液に希塩酸を加え、酢酸エチルで抽出し、水、飽和食塩水で順に洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧乾固させた。得られた残渣のうちの238 mgを高速液体クロマトグラフィー (20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水(酢酸添加、pH3.5):アセトニトリル= 65:35で溶出)により精製し、化合物53(46.0 mg)を得た。

実施例31 (化合物54, 55)

ラディシコール (378 mg) をN,N-ジメチルホルムアミド (6 ml) に溶解し、氷冷下トリエチルアミン (56.4 mg) 及びチオ酢酸 (163 mg) を加え、引き続き氷冷下一晩攪拌した。反応液に希塩酸を加え、酢酸エチルで抽出し、水、飽和食塩水で順に洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧乾固させた。得られた残渣のうちの238 mgを高速液体クロマトグラフィー (20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水 (酢酸添加、pH3.5) : アセトニトリル= 65:35で溶出) により精製し、化合物54 (49.0 mg)、化合物55 (15.7 mg) を得た。

実施例32 (化合物56)

ラディシコール (131 mg) をアセトン (10 ml) に溶解し、プロモ酢酸メチル (219 mg) 及び炭酸カリウム (183 mg) を加え、室温で3時間攪拌した。反応液に希塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥して、減圧乾固させた。得られた残渣を酢酸エチルより再結晶して化合物56 (81.8 mg) を得た。

実施例33 (化合物57)

化合物7 (116 mg) をアセトン (10 ml) に溶解し、プロモ酢酸メチル (330 mg) 及び炭酸カリウム (276 mg) を加え、室温で3日間攪拌した。反応液に希塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧乾固させた。得られた残渣を酢酸エチルより再結晶して化合物 57 (27.7 mg) を得た。

実施例34 (化合物58)

ラディシコール (103 mg) をN,N-ジメチルホルムアミド (6 ml) に溶解し、ニコチン酸 (190 mg)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (270 mg) 及び4-ジメチルアミノピリジン (37.7 mg) を加え、室温で3.5時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧乾固させた。得られた残渣をアセトン- 水よ

り再結晶して化合物 58 (94.5 mg) を得た。

実施例35 (化合物59)

化合物56 (312 mg) をメタノール (60 ml) に懸濁し、水酸化カリウム (206 mg) - 水 (20 ml) を加え室温で15分攪拌した。反応液に希塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧乾固させた。得られた残渣を高速液体クロマトグラフィー (20φ×250mm, YMC-Pack Pro C18, 水 (酢酸添加、pH3.5) : アセトニトリル = 65:35 で溶出) により精製し、化合物59 (10.6 mg) を得た。

実施例36 (化合物60, 61, 62, 63, 68, 70)

グルコース2.0%、マンニトール4.0%、オートミール2.0%、酵母エキス0.4%、硫酸鉄 (II) ・ 7 水和物0.001%、硫酸亜鉛 (II) 7 水和物0.001%、硫酸マンガン (II) 4 - 5 水和物0.001%、硫酸銅 (II) 5 水和物0.0005% からなる pH 6 の無菌液体培地に *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* TF-0480 株を接種し、26℃、72時間振盪培養した。次に50L 容ジャー 1 基を用いて、種培養と同じ組成の無菌培地30L に前記種培養液300ml を接種し、26℃、144時間攪拌通気培養した。培養終了後培養液を遠心分離し、菌体と上清に分離した。上清を1.5L の HP-20 (商品名、三菱化学社製) に吸着させ、水で洗浄した後3L のメタノールで溶出した。この溶出液を減圧濃縮後、得られた水層を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮し褐色シロップ状物質60g を得た。

培養エキスの一部 (30g) をクロロホルム-メタノール (4 : 1) の混合溶媒に溶解し、*n*-ヘキサンで湿潤させて調製したシリカゲル [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] のカラム (1600ml) に吸着させた。*n*-ヘキサン-酢酸エチルの混合溶媒で順次溶出し、*n*-ヘキサン-酢酸エチル (4 : 1) 溶出画分 (130mg)、(2 : 1) 溶出画分 (1) (1.88g)、(2) (780mg)、(1 : 2) 溶出画分 (3.56g) を得た。*n*-ヘキサン-酢酸エチル (4 : 1) 溶出画分 (130mg) を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水 (pH3.5、酢酸) (55 : 45)

を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム: YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物63(23.5mg, 20min)、化合物70(4.8mg, 24min)を得た。またn-ヘキサン-酢酸エチル(2:1)溶出画分(1)(1.88g)をアセトン(30ml)で再結晶し、化合物61(277mg)を得、溶出画分(2)(780mg)を分取薄層クロマトグラフィー [Silica Gel 60 F254 (商品名、Merck社製)、20cm×20cm、厚さ1mm] にてn-ヘキサン-アセトン(3:2)を展開溶媒として精製し、Rf値が0.4の部分を回収して酢酸エチルで抽出した後、減圧濃縮して化合物60(80.3mg)を得た。次にn-ヘキサン-酢酸エチル(1:2)溶出画分(3.56g)をクロロホルム-メタノール(4:1)の混合溶媒に溶解し、クロロホルムで湿潤させて調製したシリカゲル [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] のカラム(880ml)に吸着させた。クロロホルム-メタノールの混合溶媒で順次溶出し、クロロホルム-メタノール(98:2)溶出画分(926mg)を得、アセトン-メタノール(1ml/3ml)で再結晶することで化合物62(339mg)を得た。またクロロホルム-メタノール(97:3)溶出画分(1.42g)をセファデックスLH-20 (商品名、アマシャムファルマシアバイオテック社製) (メタノール、900ml) のカラムクロマトグラフィー、続いてアセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)(30:70)を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム: YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、得られた画分を減圧濃縮して、化合物68(4.5mg, 21min)を得た。

実施例37 (化合物64, 65, 71, 72, 76)

実施例36と同様にして得た培養エキスの一部(30g)をクロロホルム-メタノール(4:1)の混合溶媒に溶解し、クロロホルムで湿潤させて調製したシリカゲル [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] のカラム(700ml)に吸着させた。クロロホルム-メタノールの混合溶媒で順次溶出し、クロロホルム-メタノール(93:7)溶出画分を2つに分け、画分(1)(156mg)、(2)(164mg)とした。画分(1)を少量のメタノールに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢

酸) (30 : 70) を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム : YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、4つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物64(35.4mg, 21min)、化合物72(13.7mg, 27min)、化合物71(6.6mg, 29min)、化合物65(4.1mg, 33min)を得た。また画分(2)を同条件の分取高速液体クロマトグラフィーにて精製し、得られた画分を分取し減圧濃縮して、化合物71(3.7mg)とともに化合物76(4.5mg, 20min)を得た。

実施例38 (化合物69, 74)

実施例36と同様にして得た培養エキス(39.5g)をn-ヘキサン(300ml×2)で溶解し、生成する沈殿を濾過し溶媒を除去した。得られた沈殿(8.1g)をクロロホルム-メタノール(4 : 1)の混合溶媒に溶解し、クロロホルムで湿潤させて調製したシリカゲル [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] のカラム(650ml)に吸着させた。クロロホルム-メタノールの混合溶媒で順次溶出し、クロロホルム-メタノール(88 : 12)溶出画分(318mg)を得た。得られた画分を少量のメタノールに溶解し、アセトニトリル-水(pH3.5、酢酸)(30 : 70)を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム : YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、2つの画分を分取し各画分を減圧濃縮して、化合物74(15.3mg, 19min)、化合物69(8.0mg, 38min)を得た。

実施例39 (化合物66)

実施例36と同様にして得た培養エキス(39.5g)をn-ヘキサン(300ml×2)で溶解し、生成する沈殿を濾過し溶媒を除去した。得られた沈殿(8.1g)をクロロホルム-メタノール(4 : 1)の混合溶媒に溶解し、クロロホルムで湿潤させて調製したシリカゲル [Silica Gel 60 (商品名、Merck社製)] のカラム(650ml)に吸着させた。クロロホルム-メタノールの混合溶媒で順次溶出し、クロロホルム-メタノール(100 : 0)溶出画分(1.5g)を得た。続いてn-ヘキサン-酢酸エチルの混合溶媒でシリカゲルカラム(620ml)を行い、n-ヘキサン-

酢酸エチル（２：１）溶出画分（321mg）を得た。得られた画分を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水（pH3.5、酢酸）（45：55～70：30、グラジエント）を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー〔カラム：YMC-Pack Pro C18 AS-343（20φ×250mm）、検出UV吸収254nm、流速10ml/min〕にて精製し、化合物66（14.4mg, 34min）を得た。

実施例40（化合物73, 77, 78）

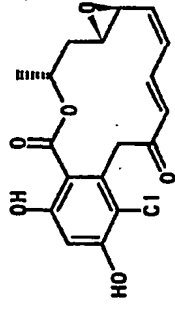
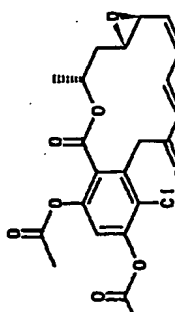
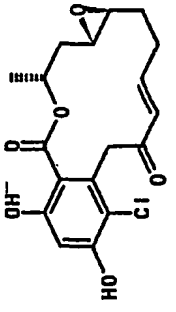
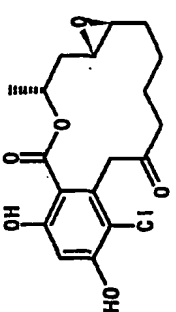
実施例36と同様にして得た培養エキス（500g）をクロロホルム-メタノール（４：１）の混合溶媒に溶解し、クロロホルムで湿潤させて調製したシリカゲル〔Silica Gel 60（商品名、Merck社製）〕のカラム（6000ml）に吸着させた。クロロホルム-メタノールの混合溶媒で順次溶出し、クロロホルム-メタノール（95：５）溶出画分（57g）を得、その一部（18g）をさらにn-ヘキサン-酢酸エチルの混合溶媒でシリカゲルカラム（800ml）を行い、n-ヘキサン-酢酸エチル（２：１）溶出画分を２つに分け、画分（１）（126mg）、（２）（985mg）とした。画分（１）を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水（pH3.5、酢酸）（55：45）を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー〔カラム：YMC-Pack Pro C18 AS-343（20φ×250mm）、検出UV吸収254nm、流速10ml/min〕にて精製し、得られた画分を減圧濃縮して、化合物78（13.4mg, 26min）を得た。また画分（２）を移動層をアセトニトリル-水（pH3.5、酢酸）（45：55）とした分取高速液体クロマトグラフィーにて精製し、２つの画分を分取しそれぞれ減圧濃縮して、化合物73（38.1mg, 10min）、化合物77（67.2mg, 26min）を得た。

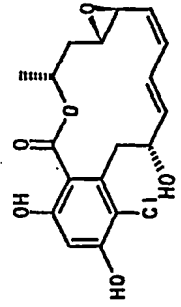
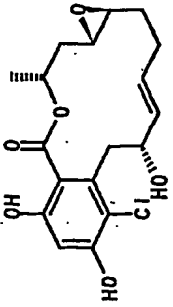
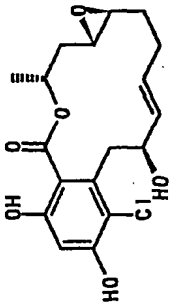
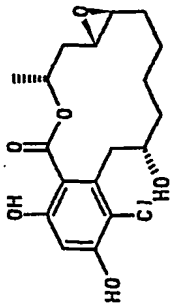
実施例41（化合物67, 75）

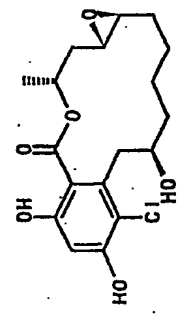
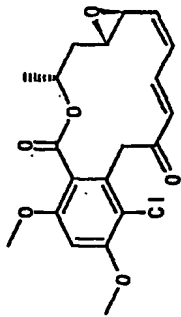
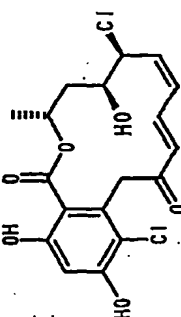
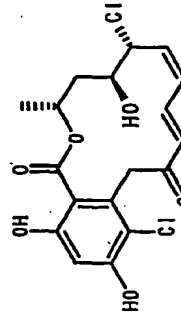
実施例36と同様にして得た培養エキス（500g）をクロロホルム-メタノール（４：１）の混合溶媒に溶解し、クロロホルムで湿潤させて調製したシリカゲル〔Silica Gel 60（商品名、Merck社製）〕のカラム（6000ml）に吸着させた。クロロホルム-メタノールの混合溶媒で順次溶出し、クロロホルム-メタノール（95：５）溶出画分（57g）を得、その一部（18g）をさらにn-ヘキサン-酢酸エチルの混合溶媒でシリカゲルカラム（800ml）を行い、n-ヘキサン-酢酸エ

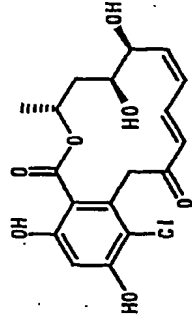
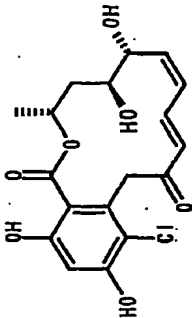
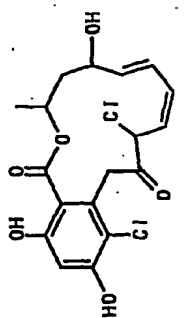
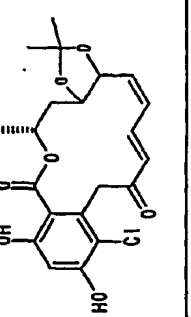
チル (1 : 2) 溶出画分 (890mg) を得た。得られた画分を少量のアセトンに溶解し、アセトニトリル-水 (pH 3.5、酢酸) (40 : 60) を移動層とした分取高速液体クロマトグラフィー [カラム : YMC-Pack Pro C18 AS-343 (20φ×250mm)、検出UV吸収254nm、流速10ml/min] にて精製し、2つの画分を分取し得られた画分を減圧濃縮して、化合物67 (17.4mg, 11min) とともにセミピュアサンプル (23.9mg) を得た。セミピュアサンプルを分取薄層クロマトグラフィー [Silica Gel 60 F254 (商品名、Merck社製)、20cm×20cm、厚さ0.5mm] にてクロロホルム-メタノール (90 : 10) を展開溶媒として精製し、Rf値が0.5の部分を回収して酢酸エチルで抽出後、減圧濃縮して化合物75 (4.3mg) を得た。

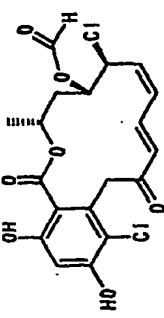
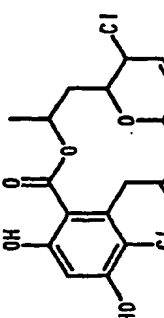
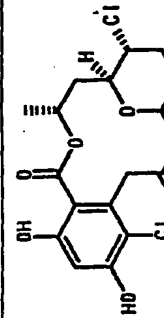
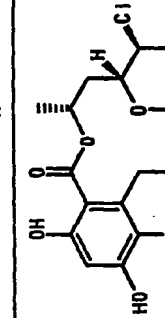
上記実施例にて合成した化合物及び精製した化合物並びにそのデータを表2に示す。

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
1		(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.48(d, J=6.7Hz, 3H), 1.83(ddd, J=15.3, 9.6, 3.7Hz, 1H), 2.33(dt, J=15.3, 3.7Hz, 1H), 2.94(dt, J=9.6, 3.0Hz, 1H), 3.19(s, 1H), 3.86(d, J=16.5Hz, 1H), 4.51(d, J=16.5Hz, 1H), 5.41(sxt, J=3.7Hz, 1H), 5.78(dd, J=9.8, 3.0Hz, 1H), 6.05(d, J=15.9Hz, 1H), 6.15(t, J=9.8Hz, 1H), 6.45(s, 1H), 7.48(dd, J=15.9, 9.8Hz, 1H)	(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 18.5(q), 36.3(t), 46.3(t), 55.8(d), 56.1(d), 71.2(d), 103.4(d), 108.0(e), 116.1(s), 130.1(d), 130.5(d), 135.0(d), 135.7(s), 139.6(d), 158.2(s), 161.2(s), 168.8(s), 199.1(s)
2		(CDCl ₃ , 500MHz) δppm: 1.51(d, J=6.7Hz, 3H), 1.54(ddd, J=14.6, 8.5, 3.7Hz, 1H), 2.24(s, 3H), 2.31(s, 3H), 2.38(dt, J=14.6, 3.7Hz, 1H), 2.99(dt, J=8.5, 3.7Hz, 1H), 3.49(qui, J=1.8Hz, 1H), 3.91(d, J=15.9Hz, 1H), 4.04(d, J=15.9Hz, 1H), 5.37(dq, J=6.7, 3.7Hz, 1H), 5.74(dd, J=11.0, 3.7Hz, 1H), 6.03(d, J=16.5Hz, 1H), 6.12(t, J=11.0Hz, 1H), 7.02(s, 1H), 7.45(dd, J=16.5, 11.0Hz, 1H)	(CDCl ₃ , 125MHz) δppm: 18.6(q), 20.6(q), 20.7(q), 37.1(t), 45.1(t), 55.0(d), 55.4(d), 70.8(d), 117.8(d), 126.3(s), 126.5(s), 129.9(d), 130.6(d), 133.6(s), 136.1(d), 139.1(d), 146.8(s), 148.7(s), 163.8(s), 167.5(s), 168.1(s), 195.6(s)
3		(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.21(m, 1H), 1.41(d, J=6.1Hz, 3H), 1.81(dt, J=15.9, 4.3Hz, 1H), 1.97(ddd, J=15.9, 4.9, 2.4Hz, 1H), 2.23(m, 1H), 2.35(ddd, J=14.0, 7.3, 2.4Hz, 1H), 2.48(dd, J=7.3, 3.7Hz, 1H), 2.52(dt, J=9.8, 2.4Hz, 1H), 2.74(sxt, J=2.4Hz, 1H), 4.27(d, J=18.3Hz, 1H), 4.40(d, J=18.3Hz, 1H), 5.21(dq, J=6.1, 4.3Hz, 1H), 6.05(dd, J=15.9, 1.2Hz, 1H), 6.48(s, 1H), 6.85(ddd, J=15.9, 11.0, 4.3Hz, 1H)	(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 17.8(q), 29.2(t), 30.8(t), 36.4(t), 45.1(t), 56.0(d), 57.6(d), 72.1(d), 103.5(d), 106.3(s), 116.3(s), 130.1(d), 136.1(s), 148.0(d), 168.8(s), 163.4(s), 170.3(s), 197.0(s)
4		(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.02(m, 1H), 1.32(d, J=6.4Hz, 3H), 1.36(m, 1H), 1.41(m, 2H), 1.64(m, 1H), 1.77(ddd, J=15.5, 6.4, 2.7Hz, 1H), 1.92(ddd, J=14.0, 7.0, 3.0Hz, 1H), 2.04(ddd, J=15.5, 5.4, 3Hz, 1H), 2.34(m, 2H), 2.53(dt, J=8.8, 3.0Hz, 1H), 2.68(m, 1H), 4.02(d, J=18.3Hz, 1H), 4.25(d, J=18.3Hz, 1H), 5.15(d'qui, J=6.4, 2.7Hz, 1H), 6.37(s, 1H)	(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 18.6(q), 22.1(t), 23.2(t), 30.8(t), 36.1(t), 40.3(t), 46.5(t), 54.8(d), 57.6(d), 70.8(d), 103.1(d), 106.4(s), 115.6(s), 135.6(s), 158.2(s), 162.2(s), 169.6(s), 208.0(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
5		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.41(d, J=6.7Hz, 3H), 1.95(dd, J=16.1, 5.5Hz, 1H), 2.50(ddd, J=16.1, 7.6, 3.0Hz, 1H), 2.97(qui, J=3.0Hz, 1H), 3.18(dd, J=12.8, 4.0Hz, 1H), 3.28(m, 1H), 3.73(dd, J=12.8, 10.4Hz, 1H), 4.52(sep, J=4.0Hz, 1H), 5.21(m, 1H), 5.31(dd, J=11.3, 5.5Hz, 1H), 5.78~5.90(m, 3H), 6.35(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.1(q), 36.0(t), 40.0(t), 56.0(d), 57.2(d), 70.3(d), 72.7(d), 103.5(d), 108.6(s), 115.9(s), 127.4(d), 129.3(d), 130.7(d), 139.0(s), 139.1(d), 159.0(s), 162.8(s), 171.2(s)
7		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.19(m, 1H), 1.35(d, J=6.7Hz, 3H), 1.85(ddd, J=15.5, 5.5, 2.4Hz, 1H), 1.95(m, 1H), 2.01(m, 1H), 2.16(m, 1H), 2.27(ddd, J=15.5, 6.7, 3.0Hz, 1H), 2.50(dt, J=9.1, 3.0Hz, 1H), 2.85(qui, J=3.0Hz, 1H), 3.23(dd, J=12.5, 5.5Hz, 1H), 3.63(dd, J=12.5, 9.4Hz, 1H), 4.33(qui, J=5.5Hz, 1H), 5.07(d'qui, J=6.7, 2.4Hz, 1H), 5.28(dd, J=15.5, 5.5Hz, 1H), 5.38(ddd, J=15.5, 12.5, 5.5, 1H), 6.32(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.2(q), 29.5(t), 31.3(t), 37.0(t), 40.2(t), 58.3(d), 59.6(d), 70.9(d), 71.8(d), 103.4(d), 109.3(d), 115.9(d), 129.1(d), 139.2(d), 140.0(d), 159.2(s), 163.0(s), 171.8(s)
8		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.27(m, 1H), 1.35(d, J=6.1Hz, 3H), 2.02(m, 1H), 2.03(m, 1H), 2.05(m, 1H), 2.17(m, 1H), 2.20(m, 1H), 2.86(dd, J=5.8, 3.0Hz, 1H), 2.92(dt, J=8.5, 3.0Hz, 1H), 3.25(dd, J=12.8, 5.5Hz, 1H), 3.30(dd, J=12.8, 9.8Hz, 1H), 4.43(m, 1H), 4.93(d' sxt, J=6.1, 1.8Hz, 1H), 5.37(dd, J=15.5, 4.0Hz, 1H), 5.64(dt, J=15.5, 6.1Hz, 1H), 6.41(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.4(q), 28.8(t), 31.2(t), 36.8(t), 39.7(t), 56.8(d), 57.6(d), 69.5(d), 70.6(d), 103.3(d), 114.7(s), 114.8(s), 129.7(d), 133.4(d), 138.5(s), 157.3(s), 158.2(s), 169.5(s)
9		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.11(m, 1H), 1.43(m, 1H), 1.45(d, J=6.4Hz, 3H), 1.48(m, 1H), 1.52(m, 1H), 1.57(m, 1H), 1.74(ddd, J=15.5, 7.3, 2.4Hz, 1H), 2.09(d'qui, J=14.3, 2.4Hz, 1H), 2.36(ddd, J=15.5, 7.3, 2.4Hz, 1H), 2.71(dt, J=9.4, 2.4Hz, 1H), 3.03(dt, J=7.3, 2.4Hz, 1H), 3.21(dd, J=7.3, 1.8Hz, 2H), 3.88(m, 1H), 5.20(d'qui, J=6.4, 2.4Hz, 1H), 6.38(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.0(q), 25.2(t), 25.8(t), 32.2(t), 36.8(t), 38.0(t), 39.9(t), 58.2(d), 60.5(d), 71.4(d), 72.8(d), 103.0(d), 112.3(s), 115.3(s), 139.7(s), 158.0(s), 160.1(s), 171.1(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
10		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.29(m, 1H), 1.35(m, 2H), 1.38(m, 2H), 1.40(d, J=6.1Hz, 3H), 1.50(m, 1H), 1.57(m, 1H), 1.94(m, 1H), 2.37(m, 1H), 2.81(dt, J=7.3, 2.4Hz, 1H), 2.88(dt, J=7.3, 2.4Hz, 1H), 2.98(dd, J=13.4, 5.5Hz, 1H), 3.15(dd, J=13.4, 7.2Hz, 1H), 3.82(qui, J=6.1Hz, 1H), 5.12(d'sxt, J=6.1, 2.4Hz, 1H), 6.39(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.5(q), 23.5(t), 24.6(t), 30.2(t), 35.1(t), 37.8(t), 39.2(t), 57.1(d), 59.1(d), 72.2(d), 72.3(d), 102.9(d), 114.6(s), 116.9(s), 138.5(s), 156.6(s), 156.8(s), 169.8(s)
11		(CDCl ₃ , 500MHz) δppm: 1.50(d, J=6.7Hz, 3H), 1.61(ddd, J=14.6, 8.6, 3.7Hz, 1H), 2.40(dt, J=14.6, 3.7Hz, 1H), 3.02(dt, J=8.6, 1.8Hz, 1H), 3.40(br t, J=1.8Hz, 1H), 3.75(d, J=15.9Hz, 1H), 3.83(s, 3H), 3.89(s, 3H), 3.95(d, J=15.9Hz, 1H), 5.35(dq, J=6.7, 3.7Hz, 1H), 5.68(dd, J=10.4, 4.3Hz, 1H), 6.07(d, J=15.9Hz, 1H), 6.12(t, J=10.4Hz, 1H), 6.45(s, 1H), 7.48(dd, J=15.9, 10.4Hz, 1H)	(CDCl ₃ , 125MHz) δppm: 18.6(q), 37.3(t), 45.2(t), 55.5(d), 55.6(d), 56.3(q), 56.4(q), 70.2(t), 95.5(d), 115.5(s), 117.9(s), 130.2(d), 131.0(d), 132.4(s), 136.6(d), 138.6(d), 156.3(s), 156.9(s), 166.0(s), 196.4(s)
12		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.42(d, J=6.4Hz, 3H), 1.89(ddd, J=15.2, 9.1, 3.6Hz, 1H), 2.03(dd, J=15.2, 7.0Hz, 1H), 3.66(d, J=16.2Hz, 1H), 3.99(dd, J=9.1, 5.8Hz, 1H), 4.21(d, J=16.2Hz, 1H), 5.12(dd, J=10.0, 5.8Hz, 1H), 5.38(dq, J=8.4, 3.6Hz, 1H), 5.75(t, J=10.0Hz, 1H), 5.95(d, J=16.1Hz, 1H), 6.17(t, J=11.0Hz, 1H), 6.46(s, 1H), 7.21(dd, J=16.1, 11.0Hz, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 19.3(q), 38.2(t), 45.7(t), 60.6(d), 70.9(d), 72.6(d), 103.9(d), 114.3(s), 116.3(s), 130.8(d), 132.6(d), 134.6(s), 138.1(d), 141.1(d), 156.9(s), 157.0(s), 168.1(s), 199.8(s)
13		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.46(d, J=6.1Hz, 3H), 1.86(ddd, J=14.0, 10.4, 3.0Hz, 1H), 2.12(ddd, J=14.0, 9.8, 3.0Hz, 1H), 3.76(d, J=15.3Hz, 1H), 3.88(dt, J=9.8, 3.0Hz, 1H), 4.73(d, J=15.3Hz, 1H), 5.00(dd, J=9.8, 3.0Hz, 1H), 5.27(m, 1H), 6.00(d, J=15.9Hz, 1H), 6.02(t, J=9.8Hz, 1H), 6.14(t, J=9.8Hz, 1H), 6.46(s, 1H), 7.18(dd, J=15.9, 9.8Hz, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.8(q), 40.6(t), 44.5(t), 60.4(d), 71.0(d), 72.1(d), 104.1(d), 113.8(s), 115.7(s), 127.6(d), 131.7(d), 135.4(s), 138.6(d), 139.1(d), 157.8(s), 158.6(s), 168.5(s), 198.7(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
14		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.42(d, J=6.7Hz, 3H), 1.87(ddd, J=15.3, 2.3, 7.1Hz, 1H), 1.95(ddd, J=15.3, 6.7Hz, 1H), 3.63(d, J=15.9Hz, 1H), 3.80(m, 1H), 4.18(d, J=15.9Hz, 1H), 4.78(ddd, J=8.5, 6.1Hz, 1H), 5.40(m, 1H), 5.73(ddd, J=11.0, 8.5Hz, 1H), 5.90(d, J=15.9Hz, 1H), 6.14(t, J=11.0Hz, 1H), 6.41(s, 1H), 7.30(ddd, J=15.9, 11.0Hz, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 19.4(q), 37.8(t), 45.8(t), 71.2(d), 71.9(d), 72.0(d), 103.8(d), 114.3(s), 116.6(s), 130.0(d), 131.5(d), 134.7(s), 142.4(d), 142.9(d), 156.7(s), 158.9(s), 168.4(s), 200.2(s)
15		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.44(d, J=6.1Hz, 3H), 1.83(ddd, J=14.6, 9.8, 3.0Hz, 1H), 2.10(ddd, J=14.6, 9.8, 3.0Hz, 1H), 3.64(ddd, J=9.8, 3.0Hz, 1H), 3.87(d, J=15.9Hz, 1H), 4.53(d, J=15.9Hz, 1H), 4.56(m, 1H), 5.45(m, 1H), 5.94(ddd, J=10.4, 7.3Hz, 1H), 5.96(d, J=15.9Hz, 1H), 6.12(t, J=10.4Hz, 1H), 6.44(s, 1H), 7.36(ddd, J=15.9, 10.4Hz, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 21.0(q), 39.3(t), 44.5(t), 69.5(d), 71.2(d), 72.7(d), 104.0(d), 113.0(s), 115.9(s), 127.2(d), 131.3(d), 135.8(s), 140.6(d), 143.7(d), 158.2(s), 158.9(s), 168.7(s), 199.5(s)
16		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.29(d, J=6.1Hz, 3H), 1.70(ddd, J=11.6, 10.4, 2.4Hz, 1H), 2.17(ddd, J=11.6, 6.1Hz, 1H), 4.07(d, J=18.9Hz, 1H), 4.05(m, 1H), 4.34(d, J=18.9Hz, 1H), 5.01(m, 1H), 5.46(d, J=9.8Hz, 1H), 5.82(ddd, J=15.3, 9.8Hz, 1H), 6.02(t, J=11.0Hz, 1H), 6.10(ddd, J=15.3, 11.0Hz, 1H), 6.30(t, J=11.0Hz, 1H), 6.45(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.6(q), 42.3(t), 42.4(t), 62.9(d), 70.4(d), 71.5(d), 103.8(d), 115.0(s), 116.4(s), 126.2(d), 127.6(d), 133.4(s), 134.8(d), 140.8(d), 158.5(s), 158.6(s), 169.4(s), 201.0(s)
17		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.38(s, 3H), 1.39(s, 3H), 1.46(d, J=6.4Hz, 3H), 1.87(ddd, J=16.1, 9.1Hz, 1H), 2.08(ddd, J=16.1, 5.8, 1.8Hz, 1H), 3.73(ddd, J=9.1, 5.8Hz, 1H), 3.85(d, J=16.4Hz, 1H), 4.38(d, J=16.4Hz, 1H), 4.71(t, J=9.1Hz, 1H), 5.65(m, 1H), 5.78(ddd, J=11.3, 9.1Hz, 1H), 6.03(d, J=16.1Hz, 1H), 6.32(t, J=11.3Hz, 1H), 6.47(s, 1H), 7.83(ddd, J=16.1, 11.3Hz, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 21.8(q), 27.2(q), 27.3(q), 34.5(t), 45.9(t), 70.3(d), 75.9(d), 78.9(d), 103.8(d), 110.1(s), 111.0(s), 116.2(s), 130.3(d), 131.3(d), 138.6(s), 138.7(d), 142.2(d), 158.8(s), 160.3(s), 169.1(s), 200.4(s)

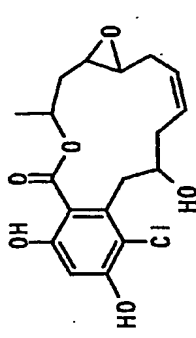
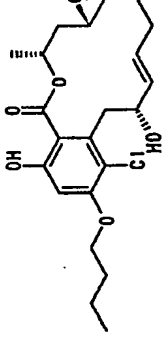
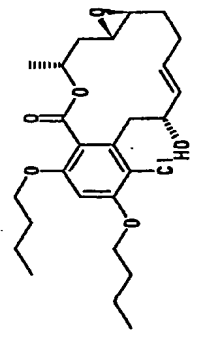
化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
18		(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.52(d, J=6.4Hz, 3H), 2.02(ddd, J=14.9, 9.1, 4.0Hz, 1H), 2.09(dd, J=14.9, 6.4Hz, 1H), 3.79(d, J=16.1Hz, 1H), 4.20(d, J=16.1Hz, 1H), 5.23(ddd, J=10.0, 5.8Hz, 1H), 5.34(dt, J=6.4, 4.0Hz, 1H), 5.39(dd, J=8.8, 5.8Hz, 1H), 5.73(t, J=10.0Hz, 1H), 6.00(d, J=16.1Hz, 1H), 6.16(t, J=11.0Hz, 1H), 6.48(s, 1H), 7.18(dd, J=16.1, 11.0Hz, 1H), 8.02(s, 1H)	(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 19.0(q), 35.4(t), 45.4(t), 56.8(d), 70.0(d), 73.3(d), 103.6(d), 114.0(s), 115.1(s), 130.9(d), 133.1(d), 133.8(s), 135.6(d), 138.2(d), 156.3(s), 156.4(s), 160.6(d), 167.3(s), 188.6(s)
19		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.25(d, J=6.1Hz, 3H), 1.74(ddd, J=15.3, 10.4, 7.9Hz, 1H), 2.01(d, J=15.3Hz, 1H), 2.48(dd, J=14.6, 3.0Hz, 1H), 3.11(dd, J=14.8, 12.2Hz, 1H), 3.81(t, J=7.9Hz, 1H), 3.92(d, J=17.7Hz, 1H), 3.97(d, J=17.7Hz, 1H), 4.39(dd, J=7.9, 1.8Hz, 1H), 4.61(d, J=12.2Hz, 1H), 5.11(m, 1H), 5.83(dt, J=10.4, 1.8Hz, 1H), 5.91(dt, J=10.4, 1.8Hz, 1H), 6.47(s, 1H), 9.97(br, s, 1H), 10.35(br, s, 1H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 20.8(q), 37.8(t), 43.3(t), 46.0(t), 56.1(d), 69.2(d), 72.1(d), 72.6(d), 102.2(d), 112.3(s), 115.0(s), 125.8(d), 131.8(d), 131.8(s), 154.0(s), 154.7(s), 167.2(s), 202.8(s)
20		(CDCl ₃ , 500MHz) δppm: 1.40(d, J=6.4Hz, 3H), 1.77(ddd, J=10.4, 7.9, 1.5Hz, 1H), 1.91(m, 1H), 2.04(m, 1H), 2.13(m, 1H), 2.23(ddd, J=12.5, 7.3Hz, 1H), 2.42(dd, J=14.6, 4.9Hz, 1H), 2.73(dd, J=15.5, 11.3Hz, 1H), 3.04(dd, J=14.6, 4.6Hz, 1H), 3.30(t, J=10.0Hz, 1H), 3.91(ddd, J=10.4, 7.9, 1.5Hz, 1H), 4.13(d, J=18.3Hz, 1H), 4.42(ext, J=4.8Hz, 1H), 4.94(d, J=18.3Hz, 1H), 5.26(ext, J=6.4Hz, 1H), 6.60(s, 1H), 11.9(br, s, 1H)	(CDCl ₃ , 125MHz) δppm: 20.6(q), 27.2(t), 28.7(t), 42.5(t), 45.3(t), 50.4(t), 58.6(d), 72.3(d), 76.1(d), 81.3(d), 103.8(d), 107.4(s), 114.5(s), 135.8(s), 156.3(s), 164.1(s), 170.3(s), 206.1(s)
21		(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.20(d, J=6.1Hz, 3H), 1.41(m, 1H), 1.66(m, 1H), 1.70(m, 1H), 1.75(m, 1H), 2.13(d, J=13.4Hz, 1H), 2.16(dd, J=11.0, 2.7Hz, 1H), 2.22(m, 1H), 2.57(t, J=11.0Hz, 1H), 3.28(t, J=9.8Hz, 1H), 3.42(ddd, J=11.6, 9.8, 4.6Hz, 1H), 3.51(dt, J=11.0, 2.7Hz, 1H), 4.13(d, J=19.2Hz, 1H), 5.05(d, ext, J=6.1, 1.8Hz, 1H), 5.31(br, d, J=19.2Hz, 1H), 6.33(s, 1H)	(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.8(q), 32.4(t), 34.1(t), 37.9(t), 47.3(t), 47.9(t), 57.5(d), 74.4(d), 76.2(d), 81.7(d), 102.8(d), 107.6(s), 115.0(s), 134.7(s), 157.3(s), 161.3(s), 170.6(s), 207.0(s)

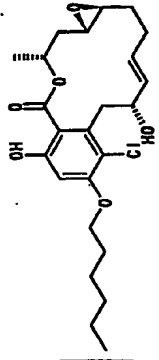
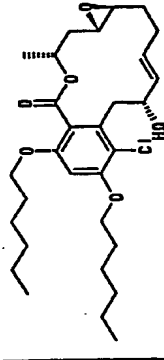
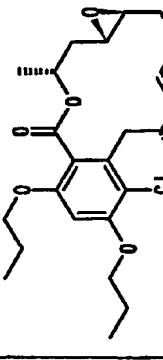
化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
22		(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.30(d, J=6.1Hz, 3H), 1.75(dd, J=11.6, 5.5Hz, 1H), 1.80(d, J=14.6Hz, 1H), 1.99(m, 1H), 2.18(m, 2H), 2.54(br.s, 2H), 2.85(br.s, 2H), 3.82(m, 1H), 3.91(br.s, 1H), 4.42(br.s, 1H), 5.15(m, 1H), 6.43(s, 1H)	(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 21.4(q), 27.0(t), 28.7(q), 35.8(t), 46.9(t), 46.9(t), 58.6(d), 68.2(d), 74.1(d), 77.0(d), 103.2(d), 107.0(s), 115.5(s), 134.8(s), 158.0(s), 162.1(s), 170.9(s), 205.0(s)
23		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.26(d, J=6.7Hz, 3H), 1.44(ddd, J=14.6, 7.9, 3.0Hz, 1H), 2.16(d, J=12.8Hz, 1H), 2.37(dd, J=14.6, 5.5Hz, 1H), 2.76(dd, J=14.8, 4.9Hz, 1H), 3.20(m, 1H), 3.71(d, J=18.3Hz, 1H), 3.90(d, J=18.3Hz, 1H), 4.21(dt, J=9.8, 1.8Hz, 1H), 4.88(d, J=6.7Hz, 1H), 5.01(br.s, 1H), 5.20(sep, J=3.7Hz, 1H), 5.89(dt, J=6.1, 1.8Hz, 1H), 6.00(dt, J=6.1, 1.8Hz, 1H), 6.50(s, 1H), 9.97(s, 1H), 10.47(br.s, 1H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.2(q), 37.6(t), 45.1(t), 48.3(t), 69.7(d), 70.3(d), 83.3(d), 88.4(d), 102.4(d), 111.7(s), 115.3(s), 129.3(d), 130.0(d), 130.2(s), 154.4(s), 154.7(s), 166.4(s), 203.8(s)
25		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.22(dt, J=17.0, 8.1Hz, 1H), 1.43(d, J=6.7Hz, 3H), 1.98(m, 1H), 2.00(m, 1H), 2.06(m, 1H), 2.21(m, 1H), 2.33(ddd, J=15.8, 7.0, 3.0Hz, 1H), 2.50(dt, J=9.4, 1.8Hz, 1H), 2.83(m, 1H), 3.35(dd, J=12.5, 6.1Hz, 1H), 3.89(dd, J=12.5, 9.8Hz, 1H), 3.94(s, 3H), 4.43(m, 1H), 5.16(d-qui, J=6.7, 2.4Hz, 1H), 5.36(dd, J=15.2, 4.3Hz, 1H), 5.53(ddd, J=15.2, 6.7, 4.3, 1.8Hz, 1H), 6.58(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 20.2(q), 29.3(t), 31.1(t), 36.5(t), 40.3(t), 58.9(q), 57.2(d), 58.3(d), 70.6(d), 70.7(d), 100.2(d), 108.0(s), 118.4(s), 127.9(d), 133.4(d), 140.4(s), 160.4(s), 164.5(s), 171.8(s)
26		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.09(m, 1H), 1.40(ddd, J=14.6, 8.6, 3.0Hz, 1H), 1.46(d, J=6.7Hz, 3H), 2.10-2.20(m, 3H), 2.31(ddd, J=14.6, 6.7, 3.7Hz, 1H), 2.69(dt, J=9.2, 1.8Hz, 1H), 2.73(dd, J=13.4, 5.5Hz, 1H), 2.83(ddd, J=8.6, 3.7, 1.8Hz, 1H), 3.28(dd, J=13.4, 6.7Hz, 1H), 3.84(s, 3H), 3.94(s, 3H), 4.49(dd, J=13.4, 6.7Hz, 1H), 5.18(d-qui, J=6.7, 3.0Hz, 1H), 5.52(dd, J=15.9, 6.7Hz, 1H), 5.58(m, 1H), 6.75(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.8(q), 28.7(t), 33.3(t), 39.0(t), 40.8(t), 56.1(d), 56.7(q), 56.8(q), 58.0(d), 71.5(d), 73.0(d), 96.5(d), 115.1(s), 119.9(s), 130.2(d), 135.7(d), 136.1(s), 156.9(s), 157.4(s), 167.2(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
27		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.15(m, 1H), 1.47(d, J=6.7Hz, 3H), 1.48(ddd, J=15.3, 7.9, 3.0Hz, 1H), 1.94(s, 3H), 2.13-2.23(m, 3H), 2.23(s, 3H), 2.30(ddd, J=15.3, 7.9, 4.3Hz, 1H), 2.34(s, 3H), 2.71(dt, J=9.2, 2.4Hz, 1H), 2.88(ddd, J=7.9, 3.7, 1.8Hz, 1H), 3.05(ddd, J=14.0, 4.9Hz, 1H), 3.51(ddd, J=14.0, 7.9Hz, 1H), 5.30(d-qui, J=6.7, 2.4Hz, 1H), 5.53(ddd, J=14.6, 7.3Hz, 1H), 5.55(m, 1H), 5.74(dt, J=14.6, 6.7Hz, 1H), 7.16(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.8(q), 20.4(q), 20.6(q), 20.9(q), 28.0(t), 28.0(t), 32.9(t), 37.4(t), 38.9(t), 56.2(d), 57.7(d), 72.8(d), 74.7(d), 118.6(d), 128.0(s), 129.0(s), 130.0(d), 134.1(d), 136.1(s), 147.6(s), 149.2(s), 165.5(s), 168.4(s), 168.7(s), 169.9(s)
28		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.17(d, J=6.1Hz, 3H), 1.53(dt, J=14.0, 5.5Hz, 1H), 1.62(m, 2H), 1.66(ddd, J=14.0, 6.7Hz, 1H), 2.25(m, 2H), 2.68(dt, J=5.5, 2.4Hz, 1H), 2.80(m, 1H), 2.99(ddd, J=17.1, 10.4Hz, 1H), 3.28(ddd, J=17.1, 3.7Hz, 1H), 3.92(qui, J=6.1Hz, 1H), 3.98(s, 3H), 5.13(ddd, J=10.4, 3.7, 3.0Hz, 1H), 5.76(ddd, J=15.3, 6.7Hz, 1H), 6.02(dt, J=15.3, 6.7Hz, 1H), 6.60(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 23.9(q), 29.4(t), 31.5(t), 32.1(t), 42.3(t), 56.6(d), 57.1(q), 58.0(d), 65.8(d), 79.3(d), 99.9(d), 102.9(s), 112.0(s), 128.2(d), 135.8(d), 138.9(s), 162.1(s), 164.0(s), 170.0(s)
29		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.22(m, 1H), 1.33(d, J=6.1Hz, 3H), 1.93(m, 1H), 1.96(m, 2H), 2.15(ddd, J=9.8, 3.0Hz, 1H), 2.18(m, 1H), 2.76(ddd, J=5.5, 3.7Hz, 1H), 2.84(dt, J=7.9, 2.4Hz, 1H), 3.09(ddd, J=12.8, 10.4Hz, 1H), 3.18(ddd, J=12.8, 4.3Hz, 1H), 3.88(s, 3H), 3.96(s, 3H), 4.52(m, 1H), 4.81(qui, J=6.1Hz, 1H), 5.32(ddd, J=16.5, 3.0, 1.2Hz, 1H), 5.72(m, 1H), 6.78(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 20.4(q), 28.6(t), 30.8(t), 36.7(t), 40.4(t), 55.3(d), 56.4(d), 56.7(q), 56.8(q), 68.6(d), 69.4(d), 96.8(d), 115.6(s), 118.9(s), 128.8(d), 133.2(d), 137.1(s), 158.0(s), 158.8(s), 167.7(s)
30		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.27(m, 1H), 1.40(d, J=6.7Hz, 3H), 1.96(m, 1H), 1.98(s, 3H), 2.03-2.10(m, 3H), 2.11(m, 1H), 2.27(s, 3H), 2.34(s, 3H), 2.75(dt, J=7.9, 2.4Hz, 1H), 2.81(m, 1H), 3.35(ddd, J=14.0, 6.7Hz, 1H), 3.55(ddd, J=14.0, 8.5Hz, 1H), 5.09(d-qui, J=6.7, 2.4Hz, 1H), 5.42(ddd, J=15.9, 4.9Hz, 1H), 5.57(ddd, J=12.8, 6.7Hz, 1H), 5.69(ddd, J=15.9, 6.7, 1.2Hz, 1H), 7.18(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.8(q), 20.4(q), 20.9(q), 20.9(q), 27.5(t), 30.9(t), 36.3(t), 37.2(t), 55.4(d), 56.1(d), 71.2(d), 71.2(d), 119.2(d), 126.6(s), 128.1(s), 128.5(d), 133.2(d), 136.9(s), 148.7(s), 149.7(s), 165.2(s), 168.3(s), 169.0(s), 169.7(s)

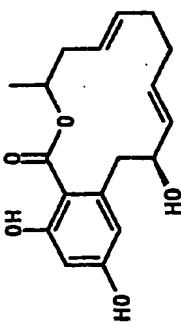
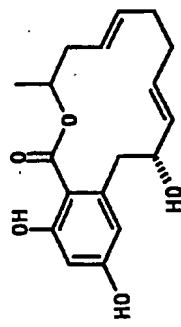
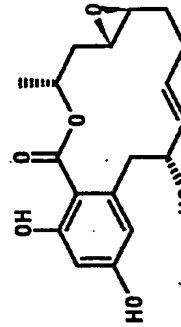
化合物 番号	構造	1H-NMR	13C-NMR
31		(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500MHz) δ ppm: 1.31(d, J=6.7Hz, 3H), 1.66(m, 2H), 2.10(ddd, J=14.6, 9.3, 7.3, 3.0Hz, 1H), 2.53(ddd, J=14.0, 6.7, 3.7Hz, 1H), 2.60(dt, J=7.9, 3.0Hz, 1H), 2.69(dt, J=9.2, 3.0Hz, 1H), 2.81(ddd, J=12.2, 7.3Hz, 1H), 3.14(ddd, J=12.2, 7.9Hz, 1H), 4.06(d, J=18.3Hz, 1H), 4.22(d, J=18.3Hz, 1H), 5.18(m, 1H), 5.28(ddd, J=15.3, 7.3, 6.7Hz, 1H), 5.40(ddd, J=15.3, 7.9, 7.3Hz, 1H), 6.38(s, 1H)	(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 125MHz) δ ppm: 18.9(q), 33.8(t), 36.2(t), 45.4(t), 45.8(t), 53.7(d), 58.2(d), 71.5(d), 103.1(d), 107.6(s), 115.6(s), 125.9(d), 129.2(d), 135.2(s), 157.8(s), 161.0(s), 169.1(s), 205.6(s)
32		(CDCl ₃ , 500MHz) δ ppm: 1.40(d, J=6.4Hz, 3H), 1.63(m, 2H), 1.79(ddd, J=14.9, 6.4, 3.0Hz, 1H), 1.89(ddd, J=14.9, 7.6, 6.4Hz, 1H), 2.20(m, 2H), 3.04(ddd, J=12.5, 7.6Hz, 1H), 3.16(ddd, J=12.5, 7.6Hz, 1H), 3.78(ddd, J=6.7, 6.4, 5.2Hz, 1H), 4.48(d, J=18.3Hz, 1H), 4.59(d, J=18.3Hz, 1H), 5.33(d-qui, J=6.4, 3.0Hz, 1H), 5.47(dt, J=15.2, 7.6Hz, 1H), 5.60(ddd, J=15.2, 7.6, 7.0Hz, 1H), 6.53(s, 1H)	(CDCl ₃ , 125MHz) δ ppm: 20.6(q), 28.0(t), 35.3(t), 42.1(t), 45.1(t), 46.4(t), 66.4(d), 71.7(d), 103.7(d), 108.5(s), 115.2(s), 123.5(d), 135.2(d), 135.8(s), 156.0(s), 161.2(s), 168.0(s), 205.0(s)
33		(CDCl ₃ , 500MHz) δ ppm: 1.42(d, J=6.4Hz, 3H), 1.86(m, 2H), 2.04(m, 1H), 2.20(m, 1H), 2.29(m, 1H), 2.32(m, 1H), 2.40(m, 1H), 2.73(ddd, J=13.4, 8.8, 3.0Hz, 1H), 3.60(ddd, J=6.7, 6.4, 5.8Hz, 1H), 4.24(d, J=17.7Hz, 1H), 4.38(d, J=17.7Hz, 1H), 5.41-5.50(m, 3H), 6.50(s, 1H)	(CDCl ₃ , 125MHz) δ ppm: 20.3(q), 22.4(t), 34.6(t), 41.1(t), 41.4(t), 47.4(t), 69.3(d), 71.2(d), 103.8(d), 107.8(s), 115.1(s), 126.5(d), 131.1(d), 136.1(s), 156.7(s), 161.9(s), 168.8(s), 207.8(s)
34		(CDCl ₃ , 500MHz) δ ppm: 1.24(m, 2H), 1.32(m, 1H), 1.44(d, J=6.7Hz, 3H), 1.46(m, 2H), 1.60(m, 2H), 1.69(m, 1H), 1.84(ddd, J=15.3, 6.7, 3.0Hz, 1H), 1.95(ddd, J=15.3, 7.3, 5.5Hz, 1H), 2.32(ddd, J=15.9, 9.2, 3.7Hz, 1H), 2.58(ddd, J=15.9, 8.5, 3.0Hz, 1H), 3.71(ddd, J=6.7, 6.1, 5.5Hz, 1H), 4.33(d, J=17.7Hz, 1H), 4.51(d, J=17.7Hz, 1H), 5.47(d-qui, 6.7, 2.4Hz, 1H), 6.54(s, 1H)	(CDCl ₃ , 125MHz) δ ppm: 20.3(q), 22.0(t), 22.8(t), 25.2(t), 34.9(t), 40.6(t), 42.3(t), 46.5(t), 66.4(d), 71.4(d), 103.8(d), 107.9(s), 115.3(s), 136.2(s), 156.3(s), 161.7(s), 168.3(s), 207.8(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
35		(CD3OD, 500MHz) δppm: 1.52(d, J=6.7Hz, 3H), 1.57(m, 1H), 2.41(m, 1H), 3.01(ddd, J=9.2, 3.7, 1.9Hz, 1H), 3.34(m, 1H), 3.79(d, J=15.9Hz, 1H), 3.90(d, J=15.9Hz, 1H), 5.29(d-qui, J=6.7, 3.7Hz, 1H), 5.56(ddd, J=10.4, 3.0Hz, 1H), 6.16(m, 1H), 6.43(s, 1H), 6.83(d, J=15.9Hz, 1H), 7.22(ddd, J=15.9, 11.0Hz, 1H)	(CD3OD, 125MHz) δppm: 18.6(q), 36.2(t), 38.1(t), 56.6(d), 57.0(d), 72.3(d), 103.4(d), 114.6(s), 116.2(s), 121.9(d), 130.8(d), 132.5(d), 132.8(d), 135.5(s), 154.8(s), 156.7(s), 157.1(s), 169.0(s)
36		(CDCl3/CD3OD, 500MHz) δppm: 1.29(d, J=6.7Hz, 3H), 1.37(ddd, J=14.6, 9.2, 2.4Hz, 1H), 2.01(m, 1H), 2.16(m, 2H), 2.19(m, 1H), 2.50(ddd, J=14.0, 7.3, 3.0Hz, 1H), 2.79(ddd, J=14.0, 3.0Hz, 1H), 2.95(ddd, J=5.5, 3.0, 2.4Hz, 1H), 3.01(dt, J=9.2, 2.4Hz, 1H), 3.23(ddd, J=14.0, 10.4Hz, 1H), 3.93(m, 1H), 5.22(d-sxt, J=6.7, 2.4Hz, 1H), 5.35(dt, J=15.3, 7.3Hz, 1H), 5.52(dt, J=15.3, 7.9Hz, 1H), 6.26(s, 1H)	(CDCl3/CD3OD, 125MHz) δppm: 19.3(q), 33.1(t), 36.4(t), 37.1(t), 39.4(t), 54.6(d), 59.4(d), 70.1(d), 70.5(d), 102.0(d), 111.8(s), 113.7(s), 127.6(d), 129.8(d), 138.1(s), 155.8(s), 157.7(s), 169.4(s)
37		(CDCl3/CD3OD, 500MHz) δppm: 1.22(d, J=6.7Hz, 3H), 1.27(ddd, J=14.0, 6.7, 1.8Hz, 1H), 1.90(ddd, J=12.2, 11.6Hz, 1H), 2.07(ddd, J=14.0, 11.0, 3.0Hz, 1H), 2.40(m, 2H), 2.45(ddd, J=14.6, 3.0Hz, 1H), 2.66(ddd, J=14.0, 11.0Hz, 1H), 2.81(m, 1H), 2.88(q, J=2.4Hz, 1H), 4.05(m, 1H), 5.17(ddd, J=15.3, 8.4, 9Hz, 1H), 5.53(ddd, J=15.3, 10.4, 4.9Hz, 1H), 6.21(s, 1H)	(CDCl3/CD3OD, 125MHz) δppm: 20.1(q), 32.7(t), 37.0(t), 38.2(t), 38.8(t), 54.4(d), 59.4(d), 67.7(d), 69.9(d), 102.0(d), 112.7(s), 114.4(s), 127.5(d), 129.8(d), 138.1(s), 154.9(s), 155.1(s), 169.8(s)
38		(CDCl3/CD3OD, 500MHz) δppm: 1.44(d, J=6.1Hz, 3H), 1.84(dt, J=15.9, 4.9Hz, 1H), 1.96(m, 1H), 2.04(dt, J=15.9, 3.7Hz, 1H), 2.18(m, 1H), 2.41(ddd, J=14.0, 10.4, 3.7Hz, 1H), 2.55(ddd, J=14.0, 7.3, 2.4Hz, 1H), 2.74(dt, J=9.2, 2.4Hz, 1H), 2.96(m, 1H), 3.30(ddd, J=13.4, 9.8Hz, 1H), 3.39(ddd, J=13.4, 4.8Hz, 1H), 3.78(d-qui, J=6.1, 3.7Hz, 1H), 5.37(m, 1H), 5.52(ddd, J=10.4, 7.9Hz, 1H), 5.70(ddd, J=10.4, 5.4, 9Hz, 1H), 6.38(s, 1H)	(CDCl3/CD3OD, 125MHz) δppm: 18.6(q), 30.1(t), 36.4(t), 38.6(t), 38.8(t), 55.4(d), 56.8(d), 71.2(d), 72.1(d), 102.6(d), 107.4(s), 115.6(s), 124.2(d), 130.7(d), 138.8(s), 157.3(s), 161.7(s), 170.2(s)

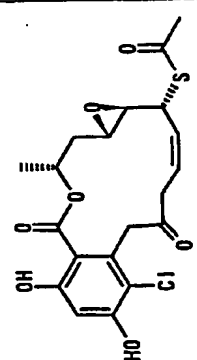
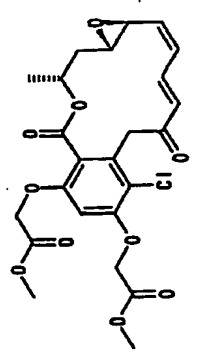
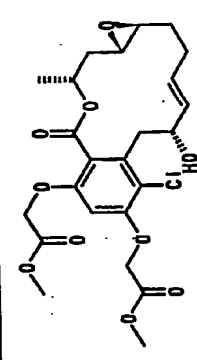
化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
39		(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.08(d, J=6.1Hz, 3H), 1.52(dd, J=14.2, 6.7Hz, 1H), 1.57(ddd, J=14.2, 5.5, 4.9Hz, 1H), 2.18(t like, J=4.9Hz, 2H), 2.42(m, 2H), 2.66(m, 1H), 2.68(m, 1H), 2.75(ddd, J=14.0, 5.5, 2.4Hz, 1H), 3.05(ddd, J=17.1, 9.2, 3.0Hz, 1H), 3.84(sxt, J=6.1Hz, 1H), 4.40(ddd, J=6.1, 5.5, 3.7Hz, 1H), 5.49(m, 2H), 6.28(s, 1H)	(CDCl ₃ /CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 22.7(q), 29.7(t), 34.6(t), 37.5(t), 40.5(t), 55.9(d), 57.4(d), 65.5(d), 77.7(d), 101.1(s), 102.0(d), 110.8(s), 126.4(d), 129.0(d), 137.9(s), 160.1(s), 162.0(s), 169.4(s)
40		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 0.98(t, J=7.3Hz, 3H), 1.21(m, 1H), 1.42(d, J=6.7Hz, 3H), 1.54(ddd, J=15.3, 7.3Hz, 2H), 1.81(dt, J=15.3, 6.7Hz, 2H), 2.00(m, 2H), 2.05(m, 1H), 2.21(m, 1H), 2.34(ddd, J=15.9, 6.7, 3.0Hz, 1H), 2.50(dt, J=9.8, 1.8Hz, 1H), 2.85(m, 1H), 3.35(ddd, J=12.8, 6.1Hz, 1H), 3.90(ddd, J=12.8, 9.8Hz, 1H), 4.12(t, J=6.7Hz, 2H), 4.44(m, 1H), 5.15(d-qui, J=6.7, 2.4Hz, 1H), 5.35(ddd, J=15.9, 4.3Hz, 1H), 5.53(ddd, J=15.9, 4.3, 1.8Hz, 1H), 6.55(s, 1H), 11.9(br.s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 14.0(q), 19.8(t), 20.3(q), 29.3(t), 31.1(t), 31.7(t), 36.5(t), 40.3(t), 57.2(d), 58.3(d), 69.7(t), 70.5(d), 70.6(d), 100.8(d), 107.8(s), 116.7(s), 127.8(d), 133.4(d), 140.4(s), 159.9(s), 184.5(s), 171.8(s)
41		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 0.92(t, J=7.3Hz, 3H), 0.97(t, J=7.3Hz, 3H), 1.07(m, 1H), 1.38(ddd, J=14.6, 9.2, 3.0Hz, 1H), 1.45(d, J=6.1Hz, 2H), 1.46(d, J=7.3Hz, 3H), 1.53(dt, J=15.3, 7.3Hz, 2H), 1.68(dt, J=14.6, 6.7Hz, 2H), 1.79(dt, J=15.3, 6.1Hz, 2H), 2.12-2.20(m, 3H), 2.33(ddd, J=14.6, 7.3, 3.7Hz, 1H), 2.71(m, 1H), 2.73(ddd, J=9.2, 6.1Hz, 1H), 2.83(m, 1H), 3.28(ddd, J=13.4, 7.3Hz, 1H), 4.04(t, J=6.1Hz, 2H), 4.12(t, J=6.1Hz, 2H), 4.48(qui, J=6.1Hz, 1H), 5.18(d-qui, J=7.3, 2.4Hz, 1H), 5.54(ddd, J=15.9, 6.1Hz, 1H), 5.59(ddd, J=15.9, 11.0Hz, 1H), 6.71(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 14.0(q*2), 19.8(*2), 19.9(q), 28.6(t), 31.9(*2), 33.6(t), 39.1(t), 41.0(t), 56.1(d), 57.9(d), 69.3(t), 69.6(t), 71.5(d), 73.3(d), 98.1(d), 115.3(s), 120.1(s), 130.2(d), 136.0(d), 136.0(s), 156.2(s), 156.8(s), 167.4(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
42		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 0.90(t, J=7.3Hz, 3H), 1.22(m, 1H), 1.33-1.39(m, 4H), 1.42(d, J=6.7Hz, 3H), 1.52(m, 2H), 1.83(dt, J=15.3, 6.7Hz, 2H), 1.99(m, 2H), 2.05(m, 1H), 2.21(m, 1H), 2.33(ddd, J=16.5, 7.3, 3.7Hz, 1H), 2.50(dt, J=9.2, 1.8Hz, 1H), 2.83(m, 1H), 3.36(dd, J=12.2, 6.1Hz, 1H), 3.90(dd, J=12.2, 9.8Hz, 1H), 4.12(t, J=7.9Hz, 2H), 4.55(m, 1H), 5.15(d-qui, J=6.7, 1.8Hz, 1H), 5.35(dd, J=15.3, 3.7Hz, 1H), 5.53(ddd, J=15.3, 4.3, 1.8Hz, 1H), 6.55(s, 1H), 11.90(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 14.2(q), 20.3(q), 23.2(t), 26.3(t), 29.3(t), 29.5(t), 31.1(t), 32.2(t), 36.5(t), 40.3(t), 57.2(d), 58.3(d), 70.0(t), 70.5(d), 70.6(d), 100.9(d), 107.8(s), 116.7(s), 127.8(d), 133.4(d), 140.4(s), 159.9(s), 164.5(s), 171.8(s)
43		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 0.88(t, J=7.3Hz, 3H), 0.90(t, J=7.3Hz, 3H), 1.07(m, 1H), 1.31(m, 4H), 1.35(m, 4H), 1.38(m, 1H), 1.43(m, 2H), 1.46(d, J=6.1Hz, 3H), 1.51(m, 2H), 1.69(dt, J=14.8, 6.7Hz, 2H), 1.81(dt, J=15.2, 6.1Hz, 2H), 2.11-2.21(m, 3H), 2.34(ddd, J=14.8, 7.3, 3.7Hz, 1H), 2.71(ddd, J=7.3, 1.8Hz, 1H), 2.73(dd, J=13.4, 5.5Hz, 1H), 2.83(m, 1H), 3.29(dd, J=13.4, 7.3Hz, 1H), 4.03(t, J=6.1Hz, 2H), 4.11(t, J=6.1Hz, 2H), 4.49(dd, J=12.5, 5.5Hz, 1H), 5.18(d-qui, J=6.1, 2.4Hz, 1H), 5.54(dd, J=15.9, 6.1Hz, 1H), 5.59(dd, J=15.9, 4.9Hz, 1H), 6.71(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 14.2(q x 2), 19.9(q), 23.2(t x 2), 26.3(t), 26.4(t), 28.6(t), 29.8(t), 29.8(t), 32.2(t x 2), 33.6(t), 39.1(t), 41.0(t), 56.1(d), 57.9(d), 69.6(t), 69.9(t), 71.5(d), 73.3(d), 98.1(d), 115.3(s), 120.1(s), 130.2(d), 136.0(d), 136.0(s), 156.2(s), 156.8(s), 167.4(s)
44		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 0.97(t, J=7.3Hz, 3H), 1.05(t, J=7.3Hz, 3H), 1.08(m, 1H), 1.38(ddd, J=14.0, 8.5, 2.4Hz, 1H), 1.46(d, J=6.1Hz, 3H), 1.71(dt, J=13.4, 7.3Hz, 2H), 1.82(dt, J=13.4, 7.3Hz, 2H), 2.11-2.20(m, 3H), 2.33(ddd, J=14.6, 7.3, 3.8Hz, 1H), 2.71(dt, J=7.9, 2.4Hz, 1H), 2.78(dd, J=13.4, 5.5Hz, 1H), 2.82(ddd, J=8.5, 3.6, 2.4Hz, 1H), 3.30(dd, J=13.4, 7.3Hz, 1H), 3.99(t, J=6.1Hz, 2H), 4.07(t, J=6.1Hz, 2H), 4.49(qui, J=6.1Hz, 1H), 5.18(d-qui, J=6.1, 2.4Hz, 1H), 5.64(dd, J=15.9, 6.1Hz, 1H), 5.59(dd, J=15.9, 5.5Hz, 1H), 6.70(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 10.8(q x 2), 19.9(q), 23.2(t x 2), 28.6(t), 33.6(t), 39.1(t), 41.0(t), 56.1(d), 57.9(d), 71.1(t), 71.3(t), 71.5(d), 73.3(d), 98.1(d), 115.4(s), 120.1(s), 130.2(d), 136.0(d), 136.0(s), 156.2(s), 156.7(s), 167.4(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
45		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.06(m, 1H), 1.07-1.34(m, 10H), 1.39(ddd, J=14.6, 8.6, 2.4Hz, 1H), 1.47(d, J=6.1Hz, 3H), 1.63-1.85(m, 10H), 1.90(m, 2H), 2.11-2.21(m, 3H), 2.34(ddd, J=14.6, 7.9, 4.3Hz, 1H), 2.70(m, 1H), 2.73(ddd, J=13.4, 5.5Hz, 1H), 2.83(ddd, J=8.6, 3.7, 1.8Hz, 1H), 3.30(ddd, J=13.4, 7.3Hz, 1H), 3.84(d, J=6.1Hz, 2H), 3.91(d, J=6.7Hz, 2H), 4.49(ddd, J=12.5, 5.5Hz, 1H), 5.19(d-qui, J=6.1, 2.4Hz, 1H), 5.53(ddd, J=15.9, 6.7Hz, 1H), 5.55(ddd, J=15.9, 5.5Hz, 1H), 6.70(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 20.0(q), 26.5(t × 2), 27.2(t × 2), 28.5(t), 30.2(t × 2), 30.3(t × 2), 30.4(t × 2), 33.6(t), 38.6(d), 38.7(d), 39.1(t), 41.0(t), 56.2(d), 57.8(d), 71.6(d), 73.3(d), 74.8(t), 75.1(t), 97.9(d), 115.3(s), 119.8(s), 130.1(d), 136.0(d), 136.0(s), 156.3(s), 156.9(s), 167.5(s)
46		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.38(d, J=6.7Hz, 3H), 1.92(ddd, J=14.6, 9.2, 3.7Hz, 1H), 2.05(m, 1H), 2.08(m, 1H), 2.18(ddd, J=14.6, 9.8, 3.0Hz, 1H), 2.28(m, 1H), 2.38(m, 1H), 3.30(m, 1H), 3.45(ddd, J=12.2, 9.2Hz, 1H), 4.10(ddd, J=9.2, 3.7Hz, 1H), 4.25(ddd, J=9.2, 3.7Hz, 1H), 4.37(m, 1H), 5.30(m, 1H), 5.31(m, 1H), 5.61(ddd, J=15.9, 9.2, 6.7Hz, 1H), 6.43(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.7(q), 32.9(t), 32.2(t), 40.0(t), 42.9(t), 61.4(d), 67.8(d), 71.4(d), 71.6(d), 103.5(d), 111.5(s), 115.6(s), 128.6(d), 133.6(d), 138.3(s), 158.5(s), 160.8(s), 171.0(s)
47		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.08(m, 1H), 1.40(d, J=6.4Hz, 3H), 1.49(m, 2H), 1.52(m, 1H), 1.62(m, 1H), 1.87(ddd, J=15.5, 5.2, 4Hz, 1H), 1.96(m, 1H), 2.14(ddd, J=15.5, 6.4, 4.0Hz, 1H), 2.49(m, 2H), 2.59(dt, J=9.1, 2.4Hz, 1H), 2.78(ddd, J=5.5, 4.0, 2.4Hz, 1H), 3.70(d, J=17.4Hz, 1H), 4.32(d, J=17.4Hz, 1H), 5.21(d-qui, J=6.4, 2.4Hz, 1H), 6.24(d, J=2.4Hz, 1H), 6.28(d, J=2.4Hz, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.4(q), 22.8(t), 24.2(t), 31.8(t), 37.0(t), 40.8(t), 50.5(t), 55.4(d), 57.7(d), 71.2(d), 102.8(d), 106.4(s), 113.6(d), 140.7(s), 163.2(s), 166.1(s), 171.5(s), 207.7(s)
48		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.31(m, 1H), 1.33(d, J=6.7Hz, 3H), 1.32-1.38(m, 7H), 1.43(m, 1H), 1.53(ddd, J=9.2, 7.3, 2.4Hz, 1H), 1.80(m, 1H), 1.85(m, 1H), 2.54(ddd, J=18.3, 5.3, 3.7Hz, 1H), 2.77(ddd, J=18.3, 11.0, 3.7Hz, 1H), 3.79(d, J=17.7Hz, 1H), 4.61(d, J=17.7Hz, 1H), 5.15(dq, J=6.7, 3.7Hz, 1H), 6.19(d, J=2.4Hz, 1H), 6.30(d, J=2.4Hz, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 21.2(q), 22.4(t), 23.3(t), 23.8(t), 24.6(t), 27.4(t), 35.2(t), 39.4(t), 50.5(t), 74.4(d), 102.6(d), 106.3(s), 113.8(d), 140.9(s), 163.0(s), 166.4(s), 172.2(s), 207.0(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
49		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.37(d, J=6.1Hz, 3H), 2.02(m, 2H), 2.12(m, 2H), 2.29(ddd, J=14.0, 7.3, 6.1Hz, 1H), 2.56(ddd, J=14.0, 6.1, 3.7Hz, 1H), 3.23(dd, J=15.3, 5.5Hz, 1H), 3.25(ddd, J=15.3, 5.5Hz, 1H), 4.25(q, J=6.1Hz, 1H), 5.23(d-qui, J=6.1, 3.7Hz, 1H), 5.27(dd, J=15.9, 6.1Hz, 1H), 5.28(dd, J=15.9, 8.5Hz, 1H), 5.39(dd, J=15.9, 6.1Hz, 1H), 5.43(dd, J=15.9, 6.7Hz, 1H), 6.24(d, J=2.4Hz, 1H), 6.53(d, J=2.4Hz, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.5(q), 31.1(t), 32.2(t), 38.3(t), 42.4(t), 72.8(d), 73.4(d), 102.0(d), 107.4(s), 112.6(d), 127.0(d), 130.6(d), 133.3(d), 134.5(d), 144.4(s), 162.2(s), 164.6(s), 171.2(s)
50		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.39(d, J=6.7Hz, 3H), 1.94(m, 1H), 2.09(m, 1H), 2.12(m, 2H), 2.29(dt, J=15.3, 6.7Hz, 1H), 2.67(ddd, J=15.3, 7.3, 3.7Hz, 1H), 2.85(ddd, J=13.4, 6.1Hz, 1H), 3.72(ddd, J=13.4, 7.3Hz, 1H), 4.17(dd, J=11.0, 7.3Hz, 1H), 5.20(ddd, J=15.3, 6.1, 3.7Hz, 1H), 5.22(q, J=6.7Hz, 1H), 5.33(dd, J=15.3, 4.3Hz, 1H), 5.35(ddd, J=15.3, 11.0, 5.5Hz, 1H), 5.43(ddd, J=15.3, 9.2, 7.3Hz, 1H), 6.23(d, J=2.4Hz, 1H), 6.50(d, J=2.4Hz, 1H), 9.05(br.s, 1H), 11.87(br.s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.5(q), 31.0(t), 31.9(t), 37.8(t), 43.4(t), 73.3(d), 75.0(d), 102.0(d), 105.9(s), 112.1(d), 126.4(d), 128.3(d), 133.8(d), 135.0(d), 145.5(s), 162.8(s), 168.2(s), 172.4(s)
51		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.23(ddd, J=14.0, 9.2, 3.7Hz, 1H), 1.40(d, J=6.1Hz, 3H), 2.05(m, 1H), 2.11(m, 2H), 2.13(m, 1H), 2.25(m, 1H), 2.57(dt, J=9.2, 2.4Hz, 1H), 2.74(dd, J=12.6, 7Hz, 1H), 2.91(ddd, J=6.1, 2.4Hz, 1H), 3.77(dd, J=12.2, 7.9Hz, 1H), 4.13(ddd, J=12.8, 6.7Hz, 1H), 5.16(d-qui, 6.1, 1.8Hz, 1H), 5.43(ddd, J=15.9, 4.9Hz, 1H), 5.54(ddd, J=15.9, 4.9, 1.2Hz, 1H), 6.20(d, J=2.4Hz, 1H), 6.30(d, J=2.4Hz, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 19.9(q), 29.4(t), 31.8(t), 36.9(t), 43.2(t), 58.2(d), 58.9(d), 70.5(d), 74.9(d), 102.5(d), 106.2(s), 113.3(d), 129.7(d), 133.3(d), 144.6(s), 163.5(s), 166.4(s), 172.6(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
52		(DMSO-d ₆ , 500MHz) (約1:1の回転異性体) δppm: 1.39(d, J=6.7Hz, 1.5H), 1.41(d, J=6.7Hz, 1.5H), 1.50-1.57(m, 1.0H), 2.28(dt, J=14.6, 3.7Hz, 0.5H), 2.37(dt, J=14.0, 3.7Hz, 0.5H), 3.01(dt, J=7.9, 3.0Hz, 0.5H), 3.13(dt, J=8.6, 2.4Hz, 0.5H), 3.35(m, 0.5H), 3.38(m, 0.5H), 3.63(d, J=15.9Hz, 0.5H), 3.76(d, J=16.5Hz, 0.5H), 3.78(s, 4H), 3.85(d, J=15.9Hz, 0.5H), 3.97(d, J=16.5Hz, 0.5H), 5.17(m, 0.5H), 5.20(m, 0.5H), 5.70(dd, J=11.0, 4.9Hz, 0.5H), 5.74(dd, J=11.0, 3.7Hz, 0.5H), 6.04(d, J=15.9Hz, 0.5H), 6.09(d, J=16.5Hz, 0.5H), 6.22(t, J=11.6Hz, 0.5H), 6.25(t, J=10.4Hz, 0.5H), 6.54(s, 0.5H), 6.70(s, 0.5H), 7.18(m, 2H), 7.28-7.38(m, 7H), 7.42(d, J=7.9Hz, 2H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) (約1:1の回転異性体) δppm: 18.1(q), 18.2(q), 34.7(t), 34.9(t), 36.3(t), 36.4(t), 44.6(t), 44.9(t), 54.2(d × 2), 55.0(d), 55.1(d), 69.6(d), 70.8(d), 109.4(d), 110.1(d), 119.4(s × 2), 119.5(s × 2), 125.8(d), 126.5(d), 127.7(d × 2), 128.4(d × 2), 129.0(d × 2), 129.1(d × 2), 129.6(d), 129.7(d), 130.5(d × 2), 133.1(d), 134.5(s), 136.1(d), 136.2(d), 138.2(d), 138.4(d), 146.6(s), 146.7(s), 154.9(s), 155.3(s), 163.8(s × 2), 166.1(s), 167.8(s), 170.5(s × 2), 195.4(s), 195.8(s)
53		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.22(d, J=6.7Hz, 3H), 1.31(ddd, J=14.0, 8.5, 2.4Hz, 1H), 2.24(ddd, J=14.0, 8.3, 7.7Hz, 1H), 2.94(ddd, J=8.5, 4.3, 2.4Hz, 1H), 2.99(d, J=7.9Hz, 2H), 3.05(dd, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 3.61(t, J=8.5Hz, 1H), 3.84(d, J=1.8Hz, 2H), 5.08(dd, J=6.7, 2.4Hz, 1H), 5.55(dd, J=15.3, 8.5Hz, 1H), 5.84(dt, J=15.3, 7.9Hz, 1H), 6.48(s, 1H), 7.25(t, J=7.3Hz, 1H), 7.31(t, J=7.3Hz, 2H), 7.40(t, J=7.3Hz, 2H), 9.91(s, 1H), 10.39(s, 1H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 20.0(q), 37.3(t), 43.5(t), 45.1(t), 52.2(d), 54.6(d), 59.3(d), 70.3(d), 102.2(d), 112.0(s), 115.0(s), 126.9(d), 127.2(d), 128.9(d, × 2), 130.6(d), 131.2(d, × 2), 132.0(s), 133.5(s), 154.0(s), 154.6(s), 166.8(s), 203.1(s)
54		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.22(d, J=6.1Hz, 3H), 1.30(ddd, J=14.6, 8.5, 2.3Hz, 1H), 2.23(ddd, J=14.6, 10.4, 3.7Hz, 1H), 2.35(s, 3H), 3.00(m, 2H), 3.07(dd, J=15.3, 7.3Hz, 1H), 3.11(dd, J=7.9, 1.8Hz, 1H), 3.76(t, J=7.9Hz, 1H), 3.87(s, 2H), 5.10(dd, J=6.1, 3.7Hz, 1H), 5.63(dd, J=15.3, 7.8Hz, 1H), 5.91(ddd, J=15.3, 7.7, 3Hz, 1H), 6.48(s, 1H), 9.91(s, 1H), 10.37(s, 1H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 20.1(q), 30.6(q), 37.3(t), 43.4(t), 45.2(t), 48.1(d), 55.3(d), 58.0(d), 70.2(d), 102.2(d), 112.1(s), 115.0(s), 127.2(d), 130.0(d), 132.0(s), 153.9(s), 154.6(s), 166.8(s), 193.6(s), 203.0(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
55		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.22(d, J=5.5Hz, 3H), 1.30(m, 1H), 2.08(m, 1H), 2.38(s, 3H), 2.58(m, 1H), 3.08(br s, 1H), 3.20(dd, J=18.3, 4.9Hz, 1H), 3.71(dd, J=18.3, 11.0Hz, 1H), 3.98(br d, J=3.7Hz, 2H), 4.80(d, J=10.4Hz, 1H), 5.13(q like, J=5.5Hz, 1H), 5.17(dd, J=11.0, 10.4Hz, 1H), 5.67(dt, J=11.0, 4.9Hz, 1H), 6.49(s, 1H), 9.87(s, 1H), 10.39(s, 1H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 20.3(q), 30.6(q), 37.8(t), 40.4(t), 40.8(d), 44.2(t), 52.9(d), 58.8(d), 70.2(d), 102.3(d), 112.0(s), 114.6(s), 126.1(d), 126.7(d), 132.5(s), 154.4(s), 154.7(s), 167.2(s), 183.9(s), 203.8(s)
56		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.10(d, J=6.7Hz, 3H), 1.15-1.24(m, 1H), 2.04(dt, J=14.0, 3.1Hz, 1H), 2.79(dt, J=6.1, 2.4Hz, 1H), 2.87(s, 1H), 3.10-3.20(m, 1H), 3.33(s, 3H), 3.35(s, 3H), 3.56(d, J=15.9Hz, 1H), 4.55(d, J=11.6Hz, 1H), 4.63(d, J=11.6Hz, 1H), 4.60-4.68 (m, 2H), 4.86-4.92(m, 1H), 5.38(dd, J=10.4, 4.9Hz, 1H), 5.75(d, J=15.9Hz, 1H), 5.89(t, J=10.4Hz, 1H), 6.46(s, 1H), 7.00-7.06(m, 1H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 18.1(q), 39.4(t), 44.7(t), 51.8(q), 51.9(q), 54.8(d), 54.9(d), 65.3(t), 65.4(t), 70.4(d), 88.6(d), 114.6(s), 118.6(s), 129.7(d), 130.4(d), 131.7(s), 136.4(d), 138.3(d), 154.2(s), 154.6(s), 165.0(s), 168.3(s), 168.4(s), 195.0(s)
57		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 0.66-0.73(m, 1H), 1.02(ddd, J=14.7, 9.2, 2.4Hz, 1H), 1.11(d, J=6.1Hz, 3H), 1.76-1.84(m, 3H), 1.98(ddd, J=1.7, 7.3, 4.3Hz, 1H), 2.28(dd, J=13.4, 6.1Hz, 1H), 2.41(d like, J=9.2Hz, 1H), 2.50(ddd, J=8.5, 3.7, 2.4Hz, 1H), 2.86(dd, J=13.4, 7.3Hz, 1H), 3.38(s, 3H), 3.42(s, 3H), 3.94-3.98(m, 1H), 4.52(s, 2H), 4.68(s, 2H), 4.78(ddd, J=13.4, 6.7, 2.4Hz, 1H), 5.08-5.18(m, 2H), 6.36(s, 1H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.1(q), 27.5(t), 32.1(t), 37.6(t), 39.0(t), 51.8(q), 51.9(q), 55.0(d), 56.8(d), 65.4(t), 65.5(t), 70.9(d), 71.5(d), 97.8(d), 114.5(s), 119.3(s), 128.9(d), 134.9(s), 135.2(d), 153.4(s), 154.2(s), 165.9(s), 168.4(s), 168.5(s)

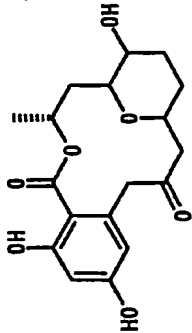
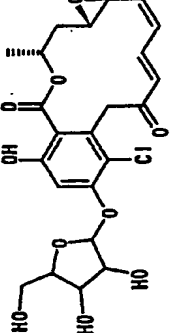
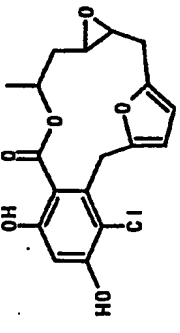
化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
58		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 0.88-0.95(m, 1H), 0.93(d, J=6.1Hz, 3H), 1.84(dt, J=14.7, 3.7Hz, 1H), 2.73(dt, J=7.9, 3.1Hz, 1H), 2.97(s, 1H), 3.60(d, J=15.9Hz, 1H), 3.87(d, J=15.9Hz, 1H), 4.76-4.83(m, 1H), 5.44(dd, J=10.4, 4.3Hz, 1H), 5.78(d, J=15.9Hz, 1H), 5.94(t, J=10.4Hz, 1H), 7.00(dd, J=15.9, 10.4Hz, 1H), 7.35(dt, J=7.9, 4.9Hz, 2H), 7.54(s, 1H), 8.10(dt, J=7.9, 1.8Hz, 1H), 8.17(dt, J=7.9, 1.8Hz, 1H), 8.60(dt, J=4.3, 1.2Hz, 2H), 8.88(d, J=2.4Hz, 1H), 8.94(d, J=2.4Hz, 1H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 18.1(q), 38.2(t), 44.5(t), 54.3(d), 54.8(d), 71.7(d), 119.0(d), 123.8(g), 124.0(g), 124.3(d), 124.4(d), 126.0(s), 127.3(s), 129.6(d), 130.4(d), 133.8(s), 136.5(d), 137.6(d), 137.8(d), 138.5(d), 146.5(s), 148.1(s), 150.5(d), 150.7(d), 154.8(d), 154.9(d), 162.2(s), 163.0(s), 163.2(s), 184.7(s)
59		(DMSO-d ₆ , 500MHz) δppm: 0.93(d, J=6.7Hz, 3H), 1.42-1.50(m, 1H), 2.23-2.40(m, 1H), 2.79-2.84(m, 1H), 2.94(s, 1H), 3.26-3.33(m, 2H), 4.32(s, 2H), 4.48(s, 2H), 4.86-4.94(m, 1H), 5.34-5.46(m, 1H), 5.65(d, J=16.5Hz, 1H), 6.06(t, J=10.4Hz, 1H), 6.37(s, 1H), 6.70(dd, J=16.5, 11.0Hz, 1H), 12.60(brs, 2H)	(DMSO-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.7(q), 38.0(t), 44.1(t), 59.6(d), 59.7(d), 65.7(t), 65.9(t), 70.8(d), 99.8(d), 115.1(s), 118.6(s), 130.1(d), 130.8(g), 131.7(d), 132.0(d), 132.8(d), 154.1(s), 168.2(s), 169.0(s), 169.1(s), 169.3(s), 189.0(s)
60		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.60(d, J=6.7Hz, 3H), 1.85(ddd, J=14.9, 8.5, 3.7Hz, 1H), 2.44(dt, J=14.9, 3.7Hz, 1H), 3.12(dt, J=8.5, 2.7Hz, 1H), 3.32(qui, J=2.7Hz, 1H), 3.56(d, J=14.0Hz, 1H), 4.97(d, J=14.0Hz, 1H), 5.83(ddd, J=10.7, 2.7Hz, 1H), 5.97(d, J=16.1Hz, 1H), 6.28(d, J=2.7Hz, 1H), 6.29(d, J=2.7Hz, 1H), 6.30(ddd, J=11.3, 10.7, 1.5Hz, 1H), 7.83(ddd, J=16.1, 11.3, 1.5Hz, 1H), 9.16(brs, 1H), 10.94(brs, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 18.9(q), 36.9(t), 43.9(t), 55.7(d), 56.0(d), 72.0(d), 102.8(d), 106.0(s), 110.1(d), 130.6(d), 131.7(d), 137.2(d), 140.3(s), 141.6(d), 162.9(s), 165.5(s), 170.4(s), 188.8(s)

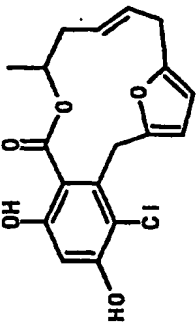
化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
61		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.23(d, J=6.4Hz, 3H), 2.04(m, 1H), 2.12(m, 1H), 2.12-2.25(m, 3H), 2.39(dt, J=10.4, 3.0Hz, 1H), 3.50(d, J=15.2Hz, 1H), 3.90(d, J=15.2Hz, 1H), 5.08(d-xt, J=6.4, 3.0Hz, 1H), 5.29(ddd, J=15.2, 7.0, 4.3Hz, 1H), 5.31(ddd, J=15.2, 7.6, 4.9Hz, 1H), 5.86(d, J=16.1Hz, 1H), 6.09(d, J=2.4Hz, 1H), 6.20(d, J=2.4Hz, 1H), 6.64(ddd, J=16.1, 7.6, 8.4Hz, 1H), 9.92(br.s, 1H), 10.27(br.s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.2(q), 30.3(t), 30.4(t), 37.9(t), 45.2(t), 71.0(d), 101.4(d), 108.8(d), 110.3(s), 128.3(d), 129.7(d), 131.2(d), 136.6(s), 148.2(d), 159.5(s), 160.2(s), 168.4(s), 198.6(s)
62		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.19(m, 1H), 1.37(d, J=6.7Hz, 3H), 1.63(ddd, J=16.1, 5.2, 4.0Hz, 1H), 2.06(dt, J=16.1, 4.0Hz, 1H), 2.27(m, 1H), 2.29(m, 1H), 2.47(dd, J=8.8, 4.6Hz, 1H), 2.51(dt, J=9.4, 2.7Hz, 1H), 2.80(ddd, J=5.5, 4.0, 2.7Hz, 1H), 3.65(d, J=17.7Hz, 1H), 4.65(d, J=17.7Hz, 1H), 5.18(m, 1H), 6.02(d, J=15.8Hz, 1H), 6.24(d, J=2.4Hz, 1H), 6.27(d, J=2.4Hz, 1H), 6.91(ddd, J=15.8, 11.0, 4.6Hz, 1H), 9.23(br.s, 1H), 11.91(br.s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 18.1(q), 29.8(t), 31.8(t), 37.0(t), 48.2(t), 55.7(d), 57.0(d), 72.5(d), 102.8(d), 105.9(s), 113.9(d), 131.9(d), 141.3(s), 148.6(d), 163.4(s), 167.1(s), 171.9(s), 198.8(s)
63		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.36(d, J=6.7Hz, 3H), 1.50(m, 2H), 1.59(m, 2H), 2.03(m, 1H), 2.10(m, 1H), 2.30(dt, J=14.0, 5.5Hz, 1H), 2.49(m, 2H), 2.56(ddd, J=14.0, 3.7, 3.0Hz, 1H), 3.56(d, J=17.1Hz, 1H), 4.36(d, J=17.1Hz, 1H), 5.28(d-qui, J=6.7, 3.7Hz, 1H), 5.45(ddd, J=15.9, 5.5Hz, 1H), 5.48(ddd, J=15.9, 5.5Hz, 1H), 6.24(d, J=2.4Hz, 1H), 6.31(d, J=2.4Hz, 1H), 9.19(br.s, 1H), 11.76(br.s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.1(q), 22.9(t), 26.0(t), 33.0(t), 38.1(t), 41.1(t), 50.4(t), 73.5(d), 102.7(d), 106.2(s), 113.2(d), 125.8(d), 135.2(d), 140.9(s), 163.1(s), 166.4(s), 171.8(s), 207.3(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
64		(CD3OD, 500MHz) δppm: 1.28(dd, J=12.2, 9.2Hz, 1H), 1.44(d, J=6.1Hz, 3H), 1.78(d, J=15.9Hz, 1H), 2.54(d, J=12.2Hz, 1H), 2.61(d, J=9.2Hz, 1H), 2.87(br.s, 1H), 4.36(d, J=18.3Hz, 1H), 4.36(m, 1H), 4.53(d, J=18.3Hz, 1H), 5.21(br.s, 1H), 6.14(d, J=15.9Hz, 1H), 6.46(s, 1H), 6.82(dd, J=15.9, 9.2Hz, 1H)	(CD3OD, 125MHz) δppm: 18.0(q), 37.4(t), 41.2(t), 45.7(t), 55.4(d), 56.8(d), 70.5(d), 73.4(d), 104.3(d), 107.8(s), 116.8(s), 129.4(d), 137.2(s), 150.6(d), 160.0(s), 184.2(s), 171.3(s), 198.5(s)
65		(CD3OD, 500MHz) δppm: 1.19(d, J=6.4Hz, 3H), 2.16(ddd, J=14.3, 7.6, 6.7Hz, 1H), 2.25(dt, J=12.8, 8.2Hz, 1H), 2.36(ddd, J=12.8, 7.3, 4Hz, 1H), 2.47(ddd, J=14.3, 6.7, 3.7Hz, 1H), 4.10(d, J=17.7Hz, 1H), 4.14(d, J=17.7Hz, 1H), 4.24(m, 1H), 5.20(m, 1H), 5.23(dd, J=15.5, 6.1Hz, 1H), 5.38(dt, J=15.5, 7.6Hz, 1H), 5.80(d, J=15.8Hz, 1H), 6.35(s, 1H), 6.89(dt, J=15.8, 8.2Hz, 1H)	(CD3OD, 125MHz) δppm: 18.9(q), 38.0(t), 40.8(t), 45.8(t), 72.6(d), 73.5(d), 104.1(d), 109.6(s), 116.7(s), 128.3(d), 132.1(d), 136.6(s), 137.1(d), 146.1(d), 159.9(s), 162.3(s), 170.7(s), 198.7(s)
66		(Acetone-d6, 500MHz) δppm: 1.28(d, J=8.4Hz, 3H), 2.15(m, 2H), 2.24(m, 1H), 2.28(m, 2H), 2.57(ddd, J=14.6, 8.2, 4.3Hz, 1H), 4.10(d, J=17.7Hz, 1H), 4.33(d, J=17.7Hz, 1H), 5.23(dd like, J=15.2, 7.3Hz, 1H), 5.38(ddd, J=15.2, 8.8, 5.8Hz, 1H), 5.37(dq, J=6.4, 3.7Hz, 1H), 5.81(d, J=15.5Hz, 1H), 6.57(s, 1H), 6.65(dt, J=15.5, 7.3Hz, 1H), 9.85(br.s, 1H), 11.46(s, 1H)	(Acetone-d6, 125MHz) δppm: 18.1(q), 31.8(t x 2), 37.3(t), 46.2(t), 73.4(d), 103.8(d), 108.4(s), 116.1(s), 127.7(d), 131.0(d), 133.0(d), 138.0(s), 147.3(d), 158.8(s), 163.5(s), 170.7(s), 195.2(s)
67		(CD3OD, 500MHz) δppm: 1.42(d, J=6.4Hz, 3H), 1.85(m, 2H), 3.12(s, 3H), 3.70(d, J=16.4Hz, 1H), 3.86(m, 1H), 4.20(d, J=16.4Hz, 1H), 4.41(dd, J=7.9, 4.6Hz, 1H), 5.36(sxt, J=6.4Hz, 1H), 5.70(dd, J=10.0, 9.7Hz, 1H), 5.90(d, J=16.4Hz, 1H), 6.29(dd, J=11.3, 10.0Hz, 1H), 6.43(s, 1H), 7.29(dd, J=16.4, 11.3Hz, 1H)	(CD3OD, 125MHz) δppm: 19.4(q), 37.9(t), 45.8(t), 57.4(q), 70.1(d), 71.0(d), 82.0(d), 103.6(d), 114.4(s), 116.2(s), 131.7(d), 132.5(d), 135.1(s), 140.8(d), 142.5(d), 157.0(s), 157.2(s), 168.1(s), 200.2(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
68		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.28(d, J=6.7Hz, 3H), 2.24(ddd, J=12.8, 7.3, 4.3Hz, 1H), 2.34(dt, J=14.0, 8.5Hz, 1H), 2.48(ddd, J=14.0, 7.3, 4.9Hz, 1H), 2.65(ddd, J=14.0, 7.3, 4.3Hz, 1H), 3.98(d, J=18.5Hz, 1H), 4.04(d, J=18.5Hz, 1H), 4.41(qui, J=4.9Hz, 1H), 5.37(m, 1H), 5.38(m, 1H), 5.52(dt, J=15.3, 7.9Hz, 1H), 5.89(d, J=15.9Hz, 1H), 6.29(d, J=2.4Hz, 1H), 6.31(d, J=2.4Hz, 1H), 6.73(ddd, J=15.9, 8.5, 7.3Hz, 1H).	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 18.7(q), 37.2(t), 40.7(t), 48.3(t), 72.1(d), 72.8(d), 102.8(d), 106.6(s), 113.2(d), 125.2(d), 132.5(d), 137.6(d), 141.2(s), 144.9(d), 163.0(s), 165.8(s), 171.0(s), 198.8(s)
69		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.37(d, J=6.7Hz, 3H), 1.65(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.91(m, 1H), 2.00(dd, J=15.3, 7.9Hz, 1H), 2.10(ddd, J=15.3, 7.9, 3.0Hz, 1H), 2.18(m, 1H), 2.30(ddd, J=19.5, 6.7, 3.0Hz, 1H), 2.58(ddd, J=19.5, 10.4, 3.0Hz, 1H), 4.12(d, J=18.3Hz, 1H), 4.23(dt, J=7.9, 3.0Hz, 1H), 4.42(d, J=18.3Hz, 1H), 5.24(dd, J=15.3, 7.9Hz, 1H), 5.45(qui, J=6.7Hz, 1H), 5.50(ddd, J=15.3, 10.4, 4.3Hz, 1H), 6.45(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.5(q), 21.0(t), 32.4(t), 40.2(t), 43.1(t), 47.3(t), 71.2(d), 71.8(d), 104.0(d), 109.0(s), 116.6(s), 133.0(d), 134.4(d), 137.2(s), 159.8(s), 163.4(s), 171.5(s), 208.5(s)
70		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.38(d, J=6.7Hz, 3H), 1.46(m, 1H), 1.59(m, 2H), 1.65(m, 1H), 2.02(m, 1H), 2.10(m, 1H), 2.34(dt, J=14.6, 6.1Hz, 1H), 2.52(m, 1H), 2.56(m, 2H), 4.09(d, J=17.7Hz, 1H), 4.48(d, J=17.7Hz, 1H), 5.34(qui, J=6.7, 3.0Hz, 1H), 5.49(d, J=15.3, 5.5Hz, 1H), 5.50(ddd, J=15.3, 5.5Hz, 1H), 6.54(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 19.1(q), 23.0(t), 26.3(t), 32.8(t), 38.3(t), 41.4(t), 46.9(t), 73.8(d), 103.7(d), 108.4(s), 115.9(s), 125.8(d), 135.4(d), 137.9(s), 159.8(s), 163.3(s), 171.0(s), 208.0(s)
71		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.34(d, J=6.1Hz, 3H), 1.56(dt, J=13.4, 1.8Hz, 1H), 2.15(dt, J=12.1, 4.3Hz, 1H), 2.96(dd, J=14.0, 5.5Hz, 1H), 3.27(dd, J=14.0, 6.1Hz, 1H), 3.81(d, J=18.3Hz, 1H), 4.65(dt, J=11.0, 4.3Hz, 1H), 4.68(d, J=18.3Hz, 1H), 4.78(ddd, J=12.1, 6.1, 1.8Hz, 1H), 5.28(t, J=11.0Hz, 1H), 5.78(dt, J=15.3, 6.1Hz, 1H), 6.04(ddd, J=15.3, 11.0Hz, 1H), 6.15(t, J=11.0Hz, 1H), 6.47(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.6(q), 44.0(t), 44.6(t), 45.2(t), 65.4(d), 71.6(d), 104.0(d), 114.3(s), 115.9(s), 128.4(d), 129.0(d), 130.5(d), 133.9(d), 135.1(s), 157.3(s), 157.7(s), 168.7(s), 206.3(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
72		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.34(d, J=6.1Hz, 3H), 1.73(ddd, J=14.0, 10.0, 3.4Hz, 1H), 2.20(ddd, J=14.0, 11.6, 5.5Hz, 1H), 3.06(ddd, J=15.5, 8.2Hz, 1H), 3.29(ddd, J=15.5, 6.7, 1.8Hz, 1H), 3.91(d, J=18.3Hz, 1H), 4.14(sxt, J=5.5Hz, 1H), 4.48(d, J=18.3Hz, 1H), 5.03(dd, J=6.1, 3.4Hz, 1H), 5.64(m, 1H), 5.65(m, 1H), 6.10(ddd, J=14.9, 10.7Hz, 1H), 6.18(t, J=10.7Hz, 1H), 6.47(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.6(q), 42.5(t), 42.7(t), 45.0(t), 71.3(d), 71.8(d), 104.1(d), 113.4(s), 116.0(s), 124.9(d), 128.2(d), 132.1(d), 135.8(s), 136.9(d), 157.9(s), 158.5(s), 168.9(s), 208.3(s)
73		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.40(d, J=6.7Hz, 3H), 1.43(m, 1H), 1.60(m, 1H), 1.77(m, 1H), 1.80(m, 1H), 1.89(m, 1H), 1.99(m, 1H), 2.10(m, 1H), 2.43(m, 1H), 2.68(m, 1H), 2.83(m, 1H), 3.75(m, 1H), 4.17(d, J=18.3Hz, 1H), 4.25(d, J=18.3Hz, 1H), 5.25(d- qui, J=6.7, 3.0Hz, 1H), 6.42(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 19.2(q), 31.5(c), 37.8(c), 38.3(c), 39.6(c), 47.5(t), 55.2(d), 55.7(d), 68.2(d), 72.6(d), 104.0(d), 110.0(s), 116.1(s), 136.5(s), 159.2(s), 162.4(s), 170.8(s), 209.2(s)
74		(CD ₃ OD, 500MHz) δppm: 1.36(d, J=6.7Hz, 3H), 1.75-1.84(m, 2H), 2.03(ddd, J=15.3, 7.3, 1.8Hz, 1H), 2.10(ddd, J=15.9, 7.9, 3.0Hz, 1H), 2.29(ddd, J=19.5, 6.7, 3.0Hz, 1H), 2.54(ddd, J=19.5, 9.8, 3.0Hz, 1H), 3.92(sxt, J=4.9Hz, 1H), 4.08(d, J=17.7Hz, 1H), 4.27(dt, J=9.8, 2.4Hz, 1H), 4.37(d, J=17.7Hz, 1H), 5.33(dd, J=15.3, 8.5Hz, 1H), 5.43(dd, J=15.3, 8.5Hz, 1H), 5.49(qui, J=6.7Hz, 1H), 6.47(s, 1H)	(CD ₃ OD, 125MHz) δppm: 20.8(q), 29.3(t), 38.0(c), 43.2(t), 47.4(c), 70.9(d), 71.7(d), 73.7(d), 104.1(d), 108.1(s), 116.6(s), 134.6(d), 135.1(d), 137.3(s), 159.9(s), 163.9(s), 171.6(s), 207.7(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
75		(CD3OD, 500MHz) δppm: 1.34(d, J=6.7Hz, 3H), 1.58(ddd, J=15.5, 7.3, 4.3Hz, 1H), 1.74(m, 1H), 1.91(m, 1H), 2.05(m, 1H), 2.18(dt, J=15.5, 2.4Hz, 1H), 2.40(ddd, J=15.5, 4.0Hz, 1H), 2.65(ddd, J=15.5, 10.0Hz, 1H), 3.42(ddd, J=10.0, 7.3, 2.4Hz, 1H), 3.58(m, 1H), 3.85(d, J=18.3Hz, 1H), 4.27(d, J=18.3Hz, 1H), 4.38(ddd, J=13.4, 6.7, 3.0Hz, 1H), 5.32(m, 1H), 5.98(d, J=2.4Hz, 1H), 6.14(d, J=2.4Hz, 1H)	(CD3OD, 125MHz) δppm: 19.0(q), 29.2(t), 31.5(t), 41.1(t), 47.9(t), 52.7(t), 72.9(d), 73.0(d), 77.2(d), 83.0(d), 102.9(d), 108.2(s), 113.0(d), 139.2(s), 163.2(s), 165.1(s), 171.8(s), 208.6(s)
76		(CD3OD, 500MHz) δppm: 1.52(d, J=8.1Hz, 3H), 1.65(ddd, J=14.6, 5.3, 3.7Hz, 1H), 2.43(dt, J=14.6, 3.7Hz, 1H), 3.06(dt, J=8.5, 2.4Hz, 1H), 3.35(m, 1H), 3.64(ddd, J=12.3, 7.7Hz, 1H), 3.68(ddd, J=12.3, 3.7Hz, 1H), 3.92(d, J=16.5Hz, 1H), 4.01(d, J=16.5Hz, 1H), 4.08(ddd, J=6.7, 3.0Hz, 1H), 4.17(ddd, J=6.7, 3.0Hz, 1H), 4.22(ddd, J=6.7, 4.9Hz, 1H), 5.38(m, 1H), 5.64(d, J=4.9Hz, 1H), 5.75(ddd, J=10.4, 4.3Hz, 1H), 6.06(d, J=15.9Hz, 1H), 6.20(t, J=10.4Hz, 1H), 6.85(s, 1H), 7.57(ddd, J=15.9, 10.4Hz, 1H)	(CD3OD, 125MHz) δppm: 18.7(q), 37.9(t), 46.3(t), 58.5(d), 58.8(d), 63.1(t), 71.0(d), 72.3(d), 73.5(d), 89.4(d), 103.3(d), 105.3(d), 117.1(s), 117.2(s), 130.9(d), 131.7(d), 134.4(s), 137.2(d), 140.7(d), 156.6(s), 157.8(s), 168.4(s), 199.1(s)
77		(Acetone-d6, 500MHz) δppm: 1.38(ddd, J=14.0, 9.2, 3.7Hz, 1H), 1.40(d, J=6.1Hz, 1H), 2.13(ddd, J=15.3, 7.9Hz, 1H), 2.38(ddd, J=14.0, 11.0, 4.3Hz, 1H), 2.75(ddd, J=8.5, 3.7, 1.8Hz, 1H), 2.94(ddd, J=8.5, 3.7, 2.4Hz, 1H), 3.24(ddd, J=15.3, 3.7Hz, 1H), 4.24(d, J=15.3Hz, 1H), 4.58(d, J=15.3Hz, 1H), 5.15(d-sxt, J=6.1, 3.7Hz, 1H), 5.50(br.d, J=2.4Hz, 1H), 6.17(br.d, J=2.4Hz, 1H), 6.52(s, 1H)	(Acetone-d6, 125MHz) δppm: 20.5(q), 28.6(t), 32.1(t), 38.3(t), 54.9(d), 56.5(d), 72.3(d), 103.6(d), 107.3(d), 108.3(d), 113.7(s), 114.7(s), 137.6(s), 150.4(s), 151.7(s), 156.4(s), 156.9(s), 168.3(s)

化合物 番号	構造	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
78		(Acetone-d ₆ , 500MHz) δppm: 1.38(d, J=6.1Hz, 3H), 2.25(dt, J=13.7, 10.7Hz, 1H), 2.39(dd, J=13.7, 4.6Hz, 1H), 3.18(d, J=7.3Hz, 2H), 4.17(d, J=14.3Hz, 1H), 4.58(d, J=14.3Hz, 1H), 5.40(m, 1H), 5.42(d-qui, J=6.1, 1.8Hz, 1H), 6.61(ddd, J=15.2, 10.4, 4.6Hz, 1H), 5.86(d, J=3.0Hz, 1H), 6.08(d, J=3.0Hz, 1H), 6.47(s, 1H)	(Acetone-d ₆ , 125MHz) δppm: 21.1(q), 27.9(c), 31.4(t), 39.9(t), 71.7(d), 103.2(d), 106.4(d), 107.1(d), 113.5(s), 114.4(s), 128.3(d), 131.7(d), 138.8(s), 151.7(s), 151.9(s), 156.2(s), 166.7(s), 167.0(s)

試験例1 毛乳頭細胞におけるWNT-5A mRNAの発現

ヒト毛乳頭細胞は、東洋紡から購入し、12%FBSを添加したMEM（インビトロジェン）を用いて培養した。ヒト毛包角化細胞は、荒瀬らの方法（J.Dermatol.Sci.2,66-70(1991)）に従って、抜毛髪から分離しKGM-2（三光純薬）を用いて培養した。

継代5回目の毛乳頭細胞及び継代2回目の毛包角化細胞を、 2×10^6 cells/wellとなるように10cmシャーレに播種し、二晩培養した。培地を除去し、細胞をPBS（-）で洗浄後、TRIzol試薬（インビトロジェン）を用いてtotal RNAを抽出した。各total RNA 50ng、WNT-5A又は glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 特異的なプライマー（WNT-5A forward: AATGTCTTCCAAGTCTTCCTAGTGGC（配列番号8）、WNT-5A reverse: GATGTCGGAATTGATACTGGCA（配列番号9）、GAPDH forward: ACCACAGTCCATGCCATCAC（配列番号10）、GAPDH reverse: TCCACCACCCTGTTGCTGTA（配列番号11））各0.4 μ M、及びSUPERSCRIPRT One-Step RT-PCR with PLATINUM Taq（インビトロジェン）を用いて、SUPERSCRIPRT One-Step RT-PCR with PLATINUM Taq添付のプロトコールに従い、全量25 μ lの反応系で、50℃で30分間first strand合成を行った後、94℃で2分間加熱、その後、94℃で30秒、55℃で30秒、72℃で30秒を23又は20サイクル繰り返し、各cDNA断片を増幅した。

この反応液を、1.5%アガロースゲルを用いて電気泳動し、エチジウムブロマイドにて染色した。結果を図1に示す。

毛乳頭細胞（DPC）由来のRNAを用いた場合は、WNT-5A特異的なプライマーを用いた23サイクルのPCRにおいて、顕著なcDNA断片の増幅が認められた。一方、毛包角化細胞（HFC）由来のRNAを用いた場合は、同条件において、増幅産物は認められなかった。

試験例2 WNT-5A mRNA量減少活性の測定

ヒト毛乳頭細胞は、東洋紡から購入し、12%FBSを添加したMEM（インビトロジェン）を用いて培養した。

継代5回目の毛乳頭細胞を、 1.6×10^5 cells/wellとなるように12穴プレート

に播種し、一晚培養した。化合物無添加培地、又は化合物1、2、3、4、5、7、9又は24添加培地と交換し、更に24時間、培養を行った。培養終了時、培地を除去し、細胞をPBS（－）で洗浄後、TRIzol試薬（インビトロジェン）を用いてtotal RNAを抽出した。各total RNA 50ng、WNT-5A又はGAPDH特異的なプライマー（WNT-5A forward: AATGTCTTCCAAGTTCTTCTAGTGGC（配列番号8）、WNT-5A reverse: GATGTCGGAATTGATACTGGCA（配列番号9）、GAPDH forward: ACCACAGTCCATGCCATCAC（配列番号10）、GAPDH reverse: TCCACCACCCTGTTGCTGTA（配列番号11））各0.4 μ M、及びSUPERScript One-Step RT-PCR with PLATINUM Taq（インビトロジェン）を用いて、SUPERScript One-Step RT-PCR with PLATINUM Taq添付のプロトコールに従い、全量25 μ lの反応系で、50℃で30分間first strand合成を行った後、94℃で2分間加熱、その後、94℃で30秒、55℃で30秒、72℃で30秒を23又は20サイクル繰り返し、WNT-5A又はGAPDHのcDNA断片を増幅した。

この反応液を、1.5%アガロースゲルを用いて電気泳動し、エチジウムブロマイドにて染色した。結果を図2に示す。

WNT-5A特異的なプライマーを用いた23サイクルのPCRにおいて、化合物無添加で培養した場合と比較して、化合物を添加した培養では、WNT-5A cDNA断片の増幅が顕著に減少した。

一方、GAPDH特異的なプライマーを用いた20サイクルのPCRにおいて、GAPDH cDNA断片の増幅は、化合物の添加の有無に関わらず、変動が認められなかった。

試験例3 毛乳頭細胞増殖促進活性試験

ヒト毛乳頭細胞は、東洋紡から購入し、12%FBSを添加したMEM（インビトロジェン）を用いて培養した。

継代5回目の毛乳頭細胞を、 1.5×10^4 cells/wellとなるようにスフェロイド培養用96穴プレートに播種し、一晚培養した。化合物無添加培地、又は化合物1、2、3、4、5、7、9又は24添加培地と交換し、更に72時間培養を行った。培養終了時の細胞数をCell counting kit（和光純薬）を用いて測定した。即ち、培養終了5時間前に培地の1/10量のWST-1試薬を培地に添加し、培養終了時

、培地の吸光度 (O.D. 450nm/620nm) を測定した。細胞数と吸光度は、細胞数0.25~4×10⁴ cells/wellの範囲で正の相関関係が認められた。

その結果、WNT-5A mRNA量減少活性を有する化合物が、毛乳頭細胞の増殖を促進する活性を有することが明らかになった (図3)。図中の値は、対照群6well、化合物添加群3wellの平均値である。対照群と化合物添加群との比較にはスチューデントのt検定を用いた。

* : P<0.05、** : P<0.01、*** : P<0.001

上記実験例により、WNT-5Aがヒト毛乳頭細胞に発現していること、ヒト毛乳頭細胞のWNT-5A mRNA量が本発明に係る化合物により減少すること、更に、WNT-5A mRNA量減少活性を有する化合物が、毛乳頭細胞の増殖を促進する活性を有することが示された。

試験例4：化合物 (表2) のWNT-5A mRNA量減少活性 (QuantiGene法によるmRNAの定量)

ヒト毛乳頭細胞は、東洋紡から購入し、12%FBSを添加したMEM (インビトロジェン) を用いて培養した。

継代5回目の毛乳頭細胞を、1×10⁴ cells/wellとなるように96穴プレートに播種し、一晚培養した。化合物無添加培地、又は化合物添加培地と培地交換し、更に24時間、培養を行った。培養終了後、QuantiGene High Volume Kit (パイエルメディカル) を用いて、Branched DNA (bDNA) Signal Amplification法 (Drug Metabolism and Disposition 28(5),608-616(2000)) により、WNT-5A又はGAPDHのmRNA量を定量した。即ち、QuantiGene High Volume Kit添付のプロトコールに従い、Lysis Mixtureを用いて細胞を溶解し、溶解液をCapture plateに添加した。更に、WNT-5A又はGAPDH特異的なプローブセットを添加し、53℃で20時間、反応させた。0.03% Lauryl Sulfateを含む0.1×SSCを用いてプレートを洗浄後、bDNAからなる増幅プローブを添加し、46℃で1時間反応させた。プレートを洗浄後、続いてAlkaline Phosphatase標識した標識プローブを添加し、46℃で1時間反応させた。プレートを洗浄後、基質Lumi-Phos Plusを添加し、46℃で30分間反応後、化学発光量をWALLAC 1420ARVO_S_Xを用いて測定した。

WNT-5A特異的なプローブセットは、ヒトWNT-5A mRNAの蛋白質翻訳領域の塩基配列に基づいて設計した。Capture Extender(CE)として10本のプローブ（配列番号12-21）を、Label Extender(LE)として31本のプローブ（配列番号22-52）を、Blockerとして9本のプローブ（配列番号53-60）を使用した。

また、GAPDH特異的なプローブセットとして、bDNA probe set for human GAPDH (XenoTech LLC, B0960)を使用した。

WNT-5A及びGAPDHのmRNA量は、化合物無添加対照に対する相対値（％）として表し、mRNA量を50％に減少させる化合物濃度（ IC_{50} 値）を算出して、化合物によるmRNA減少活性の指標とした。

WNT-5A及びGAPDHのmRNA量に及ぼす化合物の影響を表3に示す。表中の値は2wellの平均値である。これらの化合物は、毛乳頭細胞において、WNT-5A mRNA量を減少させた。最も活性の強い化合物の IC_{50} 値は $0.12 \mu M$ であった。WNT-5A mRNA量減少の IC_{50} 値においては、同時に測定したGAPDH mRNA量には減少が認められなかった。

表3

化合物番号	IC ₅₀ (μ M)	
	WNT-5A	GAPDH
1	0.20	28.25
2	0.39	26.41
3	3.16	57.95
4	3.46	>30
5	3.47	>30
7	4.07	>120
18	0.63	6.58
24	4.74	21.07
35	0.46	4.29
38	6.42	>120
52	0.12	13.47
53	0.12	45.45
54	2.37	>30
55	0.74	>30
58	0.50	79.95
65	8.28	109.16
68	10.69	50.63
73	9.37	>120
76	8.56	55.94
77	8.13	>120
79	0.90	38.16

試験例 5 : 化合物 (表 2) の毛乳頭細胞増殖促進活性

ヒト毛乳頭細胞は、東洋紡から購入し、12%FBSを添加したMEM (インビトロジェン) を用いて培養した。

継代 5 回目の毛乳頭細胞を、 1.5×10^4 cells/well となるようにスフェロイド培養用 96 穴プレートに播種し、一晚培養した。化合物無添加培地、又は化合物添加培地と交換し、更に 72 時間、培養を行った。培養終了時の細胞数を Cell counting kit (和光純薬) を用いて測定した。即ち、培養終了 5 時間前に培地の 1/10 量の WST-1 試薬を培地に添加し、培養終了時、培地の吸光度 (O.D. 450nm/620nm) を測定した。細胞数と吸光度は、細胞数 $0.25 \sim 4 \times 10^4$ cells/well の範囲で正の相関関係が認められた。

WNT-5A mRNA 量減少活性を有する化合物が、毛乳頭細胞の増殖に及ぼす影響を、表 4 に示す。表中の値は、対照群 6 well、化合物添加群 3 well の平均値である。対照群と化合物添加群との比較にはスチューデントの t 検定を用いた。

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

WNT-5A mRNA 量減少活性を有する化合物はいずれも、 $16 \mu\text{M}$ において顕著な毛乳頭細胞増殖促進活性を示した。 IC_{50} 値が $1 \mu\text{M}$ 未満の、強い WNT-5A mRNA 減少活性を示す化合物 1, 2, 18, 35, 52, 53, 及び 58 については、 $1 \mu\text{M}$ においても有意な増殖促進活性を示した。

表4

化合物番号	Δ O.D. 450nm/620nm (% of control)								
	1			4			16 (μ M)		
1	132.9	\pm 11.6	***	183.7	\pm 12.1	***	144.7	\pm 13.0	***
2	142.6	\pm 10.1	***	167.3	\pm 8.5	***	241.0	\pm 25.3	***
3	92.9	\pm 1.6		92.9	\pm 9.9		244.2	\pm 33.4	***
4	97.4	\pm 24.4		148.2	\pm 4.9	***	180.2	\pm 6.9	***
5	110.2	\pm 45.0		174.7	\pm 29.2	***	236.4	\pm 26.4	***
7	82.6	\pm 3.9		169.7	\pm 10.4	***	194.8	\pm 12.7	***
18	115.6	\pm 9.0	*	147.1	\pm 11.3	***	210.9	\pm 25.9	***
24	108.2	\pm 6.9		104.3	\pm 10.5		119.7	\pm 3.7	**
35	160.8	\pm 3.5	***	181.6	\pm 3.7	***	158.6	\pm 18.3	***
38	103.5	\pm 2.6		89.6	\pm 7.3		124.9	\pm 5.1	**
52	124.5	\pm 1.0	***	143.2	\pm 9.5	***	197.0	\pm 5.4	***
53	126.6	\pm 14.3	**	149.5	\pm 12.8	***	184.4	\pm 3.6	***
54	80.0	\pm 2.4		97.1	\pm 5.6		135.0	\pm 0.9	***
55	89.0	\pm 1.8		126.9	\pm 7.2	***	175.6	\pm 9.8	***
58	123.3	\pm 1.8	***	150.4	\pm 9.4	***	217.4	\pm 14.5	***
65	92.1	\pm 6.7		87.6	\pm 8.7		141.0	\pm 5.3	***
73	91.7	\pm 5.7		81.2	\pm 7.8		205.6	\pm 9.2	***
76	80.0	\pm 5.6		77.1	\pm 7.0		120.7	\pm 6.3	*
77	81.6	\pm 4.4		86.3	\pm 5.0		180.8	\pm 21.7	***
79	87.5	\pm 9.9		98.6	\pm 3.6		120.0	\pm 4.1	**

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

試験例 6 : サル皮膚器官培養におけるWNT-5A mRNAの減少

カニクイザル（オス、6 年 齢）の背部皮膚を採取し、実体顕微鏡下で5mm×8 mmに分割後、各皮膚組織片を、化合物無添加又は化合物 7 若しくは化合物 3 を添加した、10 μg/mlのInsulin（シグマ）、10ng/mlのHydrocortisone（クラボウ）を含むWilliams' MediumE（インビトロジェン）を用いて培養した。

培養11日目に皮膚組織片から毛包を分離し、TRIzol試薬（インビトロジェン）を用いてtotal RNAを抽出した。各total RNA200ng、WNT-5A又はGAPDH特異的なプライマー（WNT-5A sense : AATGTCTTCCAAGTTCTTCCTAGTGGC（配列番号 8）、WNT-5A antisense : GATGTGCGGAATTGATACTGGCA（配列番号 9）、GAPDH sense : ACCACAGTCCATGCCATCAC（配列番号10）、GAPDH antisense : TCCACCACCCTGTTGCTGTA（配列番号11））各0.4 μM、及びSUPERScript One-Step RT-PCR with PLATINUM Taq（インビトロジェン）を用いて、SUPERScript One-Step RT-PCR with PLATINUM Taq添付のプロトコールに従い、全量25 μlの反応系で、50℃で30分間first strand合成を行った後、94℃で2分間加熱、その後、94℃で30秒、55℃で30秒、72℃で30秒を40又は30サイクル繰り返し、WNT-5A又はGAPDHのcDNA断片を増幅した。

この反応液を、1.5%アガロースゲルを用いて電気泳動し、サイバーグリーン I（タカラ）にて染色した。結果を図 4 に示す。

WNT-5A特異的なプライマーを用いた40サイクルのPCRにおいて、化合物無添加で培養した場合と比較して、化合物 7 又は化合物 3 を添加した培養においては、WNT-5A cDNA断片の増幅が顕著に減少した。

一方、GAPDH特異的なプライマーを用いた30サイクルのPCRにおいて、GAPDH cDNA断片の増幅は、化合物の添加の有無に関わらず、変動が認められなかった。

試験例 7 : サル皮膚器官培養におけるProliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) 陽性細胞の増加

カニクイザル（オス、6 年 齢）の背部皮膚を採取し、実体顕微鏡下で5mm×8 mmに分割後、各皮膚組織片を、化合物無添加又は化合物 7 若しくは化合物 3 を

添加した、 $10\mu\text{g/ml}$ のInsulin（シグマ）、 10ng/ml のHydrocortisone（クラボウ）を含むWilliams' MediumE（インビトロジェン）を用いて培養した。

培養30日目に、皮膚組織片を10%中性ホルマリンを用いて室温で固定した。パラフィン切片を作製し、1%BSA添加PBSを加え室温で30分間放置し、更に0.1Mのクエン酸緩衝液で煮沸処理を行った。抗PCNA抗体（ダコジャパン、200倍希釈）と 4°C で一晩反応させ、続いてビオチン化抗マウスIgG抗体を反応させた後、ABC standard kit（ベクター）と反応させ、AEC substrate（シグマ）を用いて発色させた。

その結果、毛包及び表皮基底層の細胞において、特異的なポジティブ反応が認められた。毛包においては、休止期毛包、成長期毛包のいずれにおいても、毛乳頭及びダーマルシースにおけるPCNA陽性細胞数が、化合物7又は化合物3の添加培養により顕著に増加した（図5）。

試験例8：サル皮膚器官培養における毛球部径の増大

カニクイザル（オス、6年齢）の背部皮膚を採取し、実体顕微鏡下で $5\text{mm}\times 8\text{mm}$ に分割後、各皮膚組織片を、化合物無添加又は化合物7若しくは化合物3を添加した、 $10\mu\text{g/ml}$ のInsulin（シグマ）、 10ng/ml のHydrocortisone（クラボウ）を含むWilliams' MediumE（インビトロジェン）を用いて培養した。

培養30日目に、各皮膚組織片に含まれる全ての毛包を分離し、毛球部の直径を実体顕微鏡下で測定した。

結果を図6及び7に示す。表中の数値は、各皮膚組織片に含まれる全ての毛包の毛球部径の平均値 $\pm\text{s.e.}$ である。対照群と化合物添加群との比較にはスチューデントのt検定を用いた。*: $P<0.05$

また、図は毛球部径の分布を示すヒストグラムである。各皮膚組織片に含まれる全ての毛包を、図中に示した毛球部径のグループに各々分類し、各グループに分類された毛包の数を、組織片から分離した毛包総数に対する相対値（%）で表した。図6は化合物7添加培養の影響を示す。化合物7の存在下で30日間培養した皮膚片に含まれる毛包の毛球部径の平均値は、化合物無添加対照と比較して有意に高値であった。分布をみると、化合物無添加対照においては $140\mu\text{m}$ 以上

170 μm 未満の毛球部径を有する毛包が最も多かったが、化合物7添加においては170 μm 以上200 μm 未満の毛球部径を有する毛包の割合が最大であった。170 μm 以上の毛球部径を有する毛包の割合は、化合物無添加対照では57.6%であったが、化合物7添加では82.4%に増加した。

一方、図7は化合物3添加培養の影響を示す。化合物7の場合と同様に、化合物3存在下で30日間培養した皮膚片に含まれる毛包の毛球部径の平均値は、化合物無添加対照と比較して有意に高値であった。分布は、化合物無添加対照においては170 μm 以上200 μm 未満の毛球部径を有する毛包が最も多かったが、化合物3添加においては200 μm 以上230 μm 未満の毛球部径を有する毛包の割合が最大であった。170 μm 以上の毛球部径を有する毛包の割合は、化合物無添加対照では55.8%であったが、化合物3添加では74.5%に増加していた。

実験例9：ベニガオザル発毛試験

脱毛症状が認められるベニガオザル（雄、14年齢）の前頭部に、化合物7を0.3%含むローション1 mLを、1日1回、週5回、6ヶ月間、塗布投与した。塗布開始前に、前頭脱毛部にタトゥーによるマーキングを行い、タトゥーを含む同部位の皮膚拡大写真を、塗布開始前及び6ヶ月間塗布後に撮影した。

化合物7を含むローションの6ヶ月間塗布前後の皮膚拡大写真を、図8に示す。塗布前は、細い軟毛が多いのに対し、6ヶ月間塗布後の同部位では、軟毛の数が減少し、太い硬毛の数の増加が認められた。化合物7を含むローションの6ヶ月間の塗布により、ベニガオザルの前頭部における脱毛症状に明らかな改善が認められた。

上記の実験例により、WNT-5Aがヒト毛乳頭細胞に発現していること、ヒト毛乳頭細胞のWNT-5A mRNA量が本発明に係る化合物により減少すること、更に、WNT-5A mRNA量減少活性を有する化合物が、毛乳頭細胞の増殖を促進する活性を有することが示された。

また、本発明に係る化合物は、サル皮膚器官培養においても、毛包のWNT-5A mRNA量を減少させること、休止期毛包、成長期毛包のいずれにおいてもPCNA

染色陽性の増殖性細胞を顕著に増加させること、更に、毛包の毛球部径を増大させることが示された。

更に、本発明に係る化合物は、男性型脱毛症のモデル動物であるベニガオザルにおいて、脱毛症状の改善作用を有することが示された。

したがって、毛乳頭細胞の増殖を促進する化合物は、脱毛部毛包の毛乳頭において低下している細胞増殖能を亢進させることにより、発達した毛乳頭組織の形成に寄与し、その結果として発毛が促進される。

産業上の利用可能性

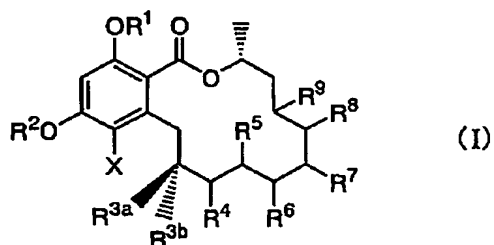
WNT-5A機能阻害剤、例えば、WNT-5A mRNA量を減少させる活性を有する化合物又はその医薬上許容される塩は、毛乳頭細胞増殖活性を有し、新規な作用機序による発毛剤／育毛剤として有用である。

本発明は、WNT-5Aの機能を阻害する化合物が、脱毛症の改善剤若しくは予防剤になるという、今までにない全く新しい概念を提供するものであり、WNT-5Aの機能を阻害する化合物のスクリーニングは、新規な発毛剤／育毛剤の開発に有用である。

請求の範囲

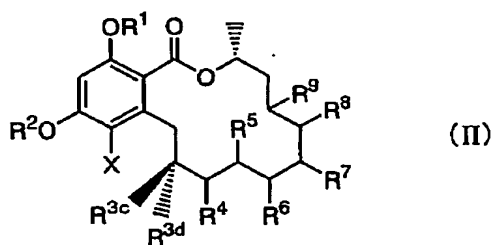
1. WNT-5Aの機能阻害活性を有する化合物を含有する毛乳頭細胞増殖促進剤。
2. WNT-5Aの機能を阻害する化合物がWNT-5A産生抑制剤である、請求項1に記載の毛乳頭細胞増殖促進剤。

3. 式 (I)



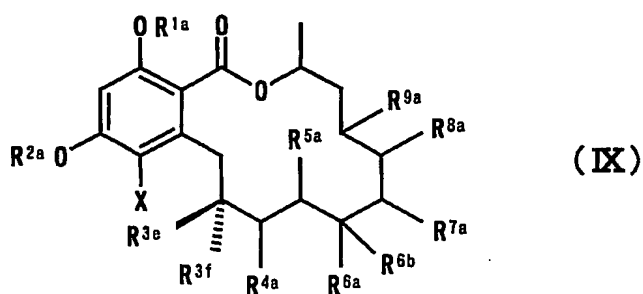
(式中、 R^1 及び R^2 は 同一又は異なって水素原子、 C_{1-6} アルキル基又は C_{2-6} アルカノイル基を示し、
 X は水素原子又はハロゲン原子を示し、
 R^{3a} 及び R^{3b} は異なって水素原子又は水酸基を示し、
 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及び R^9 は同一又は異なって水素原子、水酸基、ハロゲン原子、 C_{2-6} アルカノイルオキシ基を示すか、又は隣り合う基が一緒になってパイ結合又はエーテル結合を形成するか、あるいは R^5 と R^8 若しくは R^5 と R^9 が一緒になってエーテル結合を形成する。) で表される化合物。

4. 式 (II)



(式中、 R^1 及び R^2 は 同一又は異なって水素原子、 C_{1-6} アルキル基又は C_{2-6} アルカノイル基を示し、 X は水素原子又はハロゲン原子を示し、 R^{3c} 及び R^{3d} は同一又は異なって水素原子、水酸基又は C_{1-6} アルコキシ基を示すか、あるいは R^{3c} 及び R^{3d} が一緒になってオキソ基、ヒドロキシイミノ基又は C_{1-6} アルコキシイミノ基を形成し、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 及び R^9 は同一又は異なって水素原子、水酸基、ハロゲン原子、 C_{2-6} アルカノイルオキシ基を示すか、又は隣り合う基が一緒になってパイ結合又はエーテル結合を形成するか、あるいは R^5 と R^8 若しくは R^5 と R^9 が一緒になってエーテル結合を形成する。) で表される化合物を含有する毛乳頭細胞増殖促進剤。

5. 式 (IX)



[式中、 R^{1a} 及び R^{2a} は 同一又は異なって水素原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルカノイル基、

$(\text{CH}_2)_p \text{CO}-\text{Y}-\text{R}^{10}$ (式中、Yは酸素原子又は硫黄原子を示し、 R^{10} は水素原子、 C_{1-6} アルキル基又は置換若しくは無置換のアリール基を示し、pは0又は1を示す。)で表される基、

$(\text{CH}_2)_q \text{R}^{11}$ (式中、 R^{11} は置換若しくは無置換のシクロアルキル基又は置換若しくは無置換の C_{2-10} ヘテロ環を示し、qは0又は1を示す。)で表される基、又は COR^{12} (式中、 R^{12} は置換若しくは無置換のアリール基又は置換若しくは無置換の C_{2-10} ヘテロ環を示す。)で表される基を示し、

Xは水素原子又はハロゲン原子を示し、

R^{3e} 及び R^{3f} は同一又は異なって水素原子、水酸基、 C_{1-6} アルコキシ基又は C_{1-6} アルカノイルオキシ基を示すか、又は R^{3e} 及び R^{3f} が一緒になってオキシ基、ヒドロキシイミノ基又は C_{1-6} アルコキシイミノ基を形成し、

R^{4a} 、 R^{5a} 、 R^{6a} 、 R^{7a} 、 R^{8a} 及び R^{9a} は同一又は異なって水素原子、水酸基、ハロゲン原子又は

$\text{Z}-\text{R}^{13}$ (式中、Zは酸素原子又は硫黄原子を示し、 R^{13} は C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルカノイル基又は置換若しくは無置換のアリール基を示す。)で表される基を示すか、

又は隣り合う基が一緒になってパイ結合又はエーテル結合を形成するか、

あるいは R^{5a} と R^{8a} 若しくは R^{5a} と R^{9a} が一緒になってエーテル結合を形成し、

R^{6b} は水素原子を示すか、あるいは R^{3e} 若しくは R^{3f} と一緒にエーテル結合を形成する。]で表される化合物を含有する毛乳頭細胞増殖促進剤。

6. 請求項1、2、4又は5に記載の毛乳頭細胞増殖促進剤を有効成分とする発毛剤又は育毛剤。

7. 薬学的に有効量のWNT-5Aの機能阻害活性を有する化合物をヒトに投与することを特徴とする、発毛又は育毛方法。

8. 発毛剤又は育毛剤の製造における、WNT-5Aの機能阻害活性を有する化合物

の使用。

9. WNT-5Aの機能を阻害する化合物を選択することを特徴とする、毛乳頭細胞増殖促進剤のスクリーニング方法。

10. 下記(a)～(c)の工程を含むことを特徴とする請求項9記載の方法。

(a) ヒトWNT-5A発現細胞を化合物を添加した培地を用いて培養する工程：

(b) 工程(a)で培養したヒトWNT-5A発現細胞を溶解してRNAを抽出し、WNT-5A mRNA量を測定する工程：及び

(c) 工程(b)で測定したWNT-5A mRNA量を比較する工程。

図1

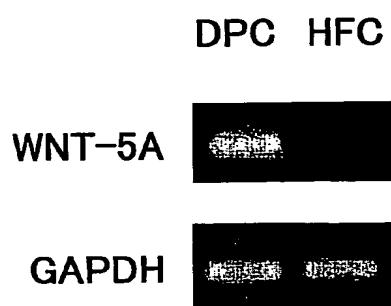


図2

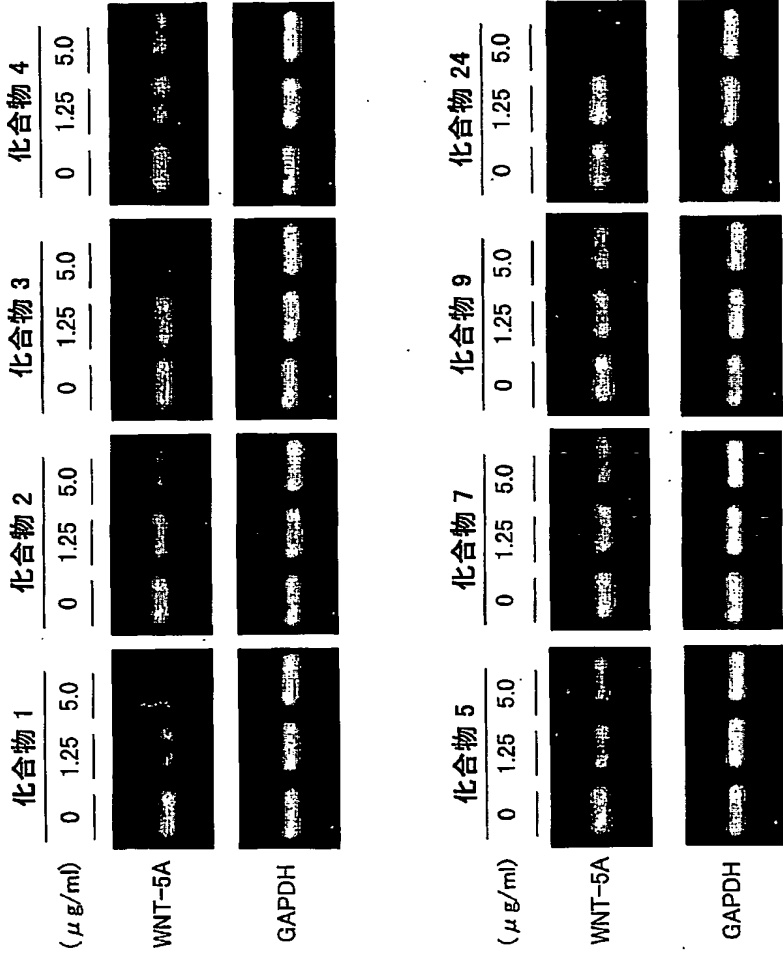


図3

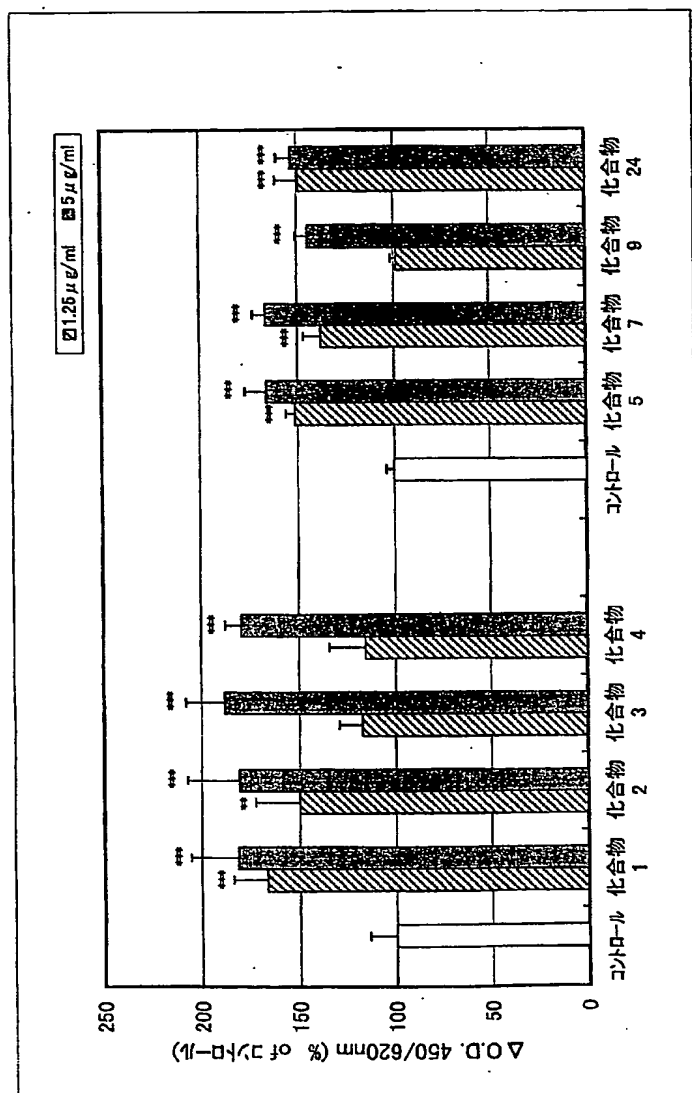
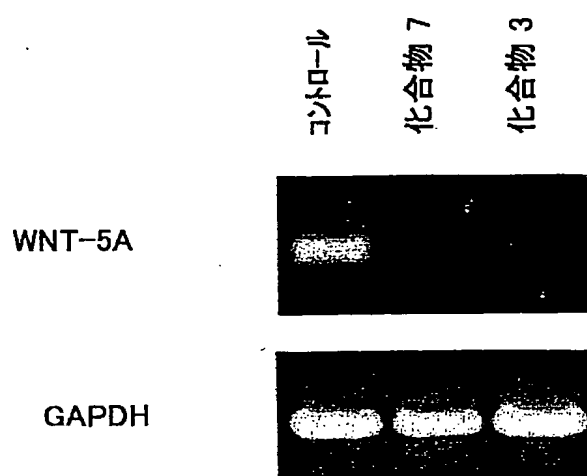
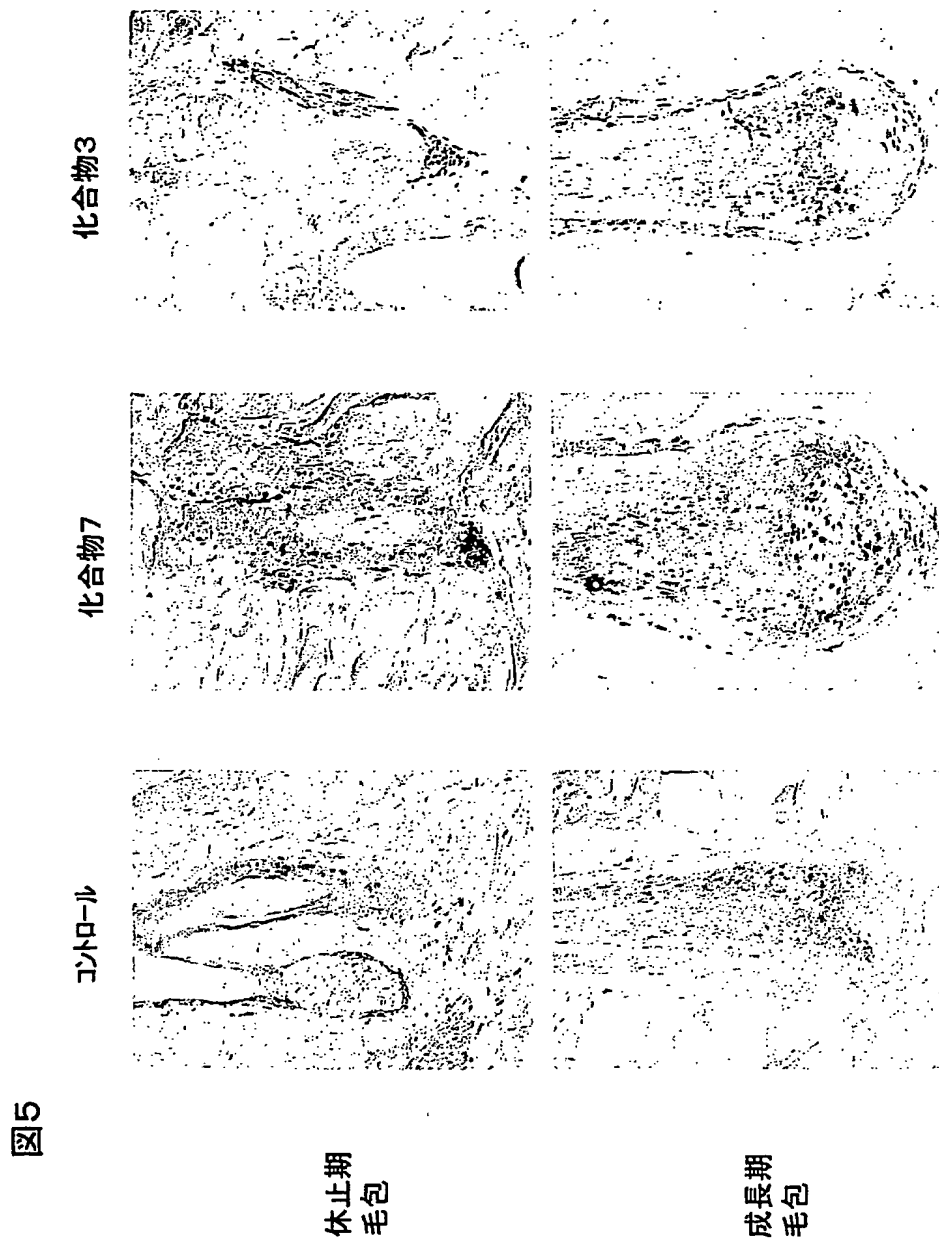


図4





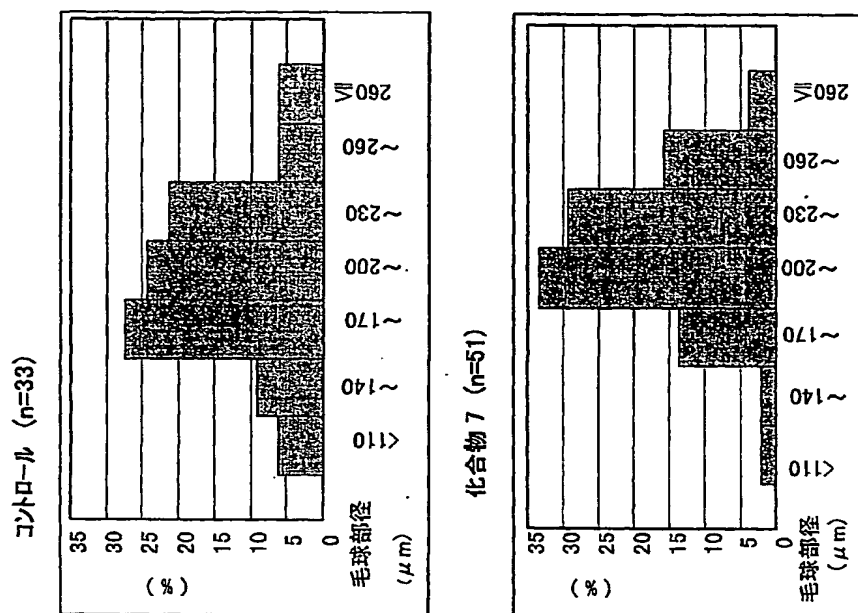


図6

平均

	毛細胞径 (μm)
コントロール	178 ± 8
化合物 7	199 ± 5 *

*: <0.05

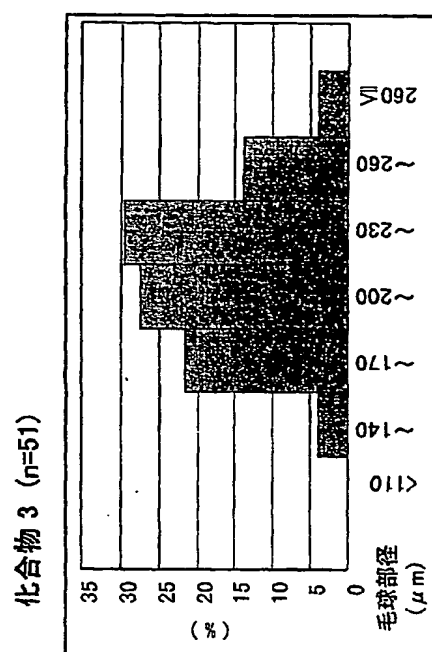
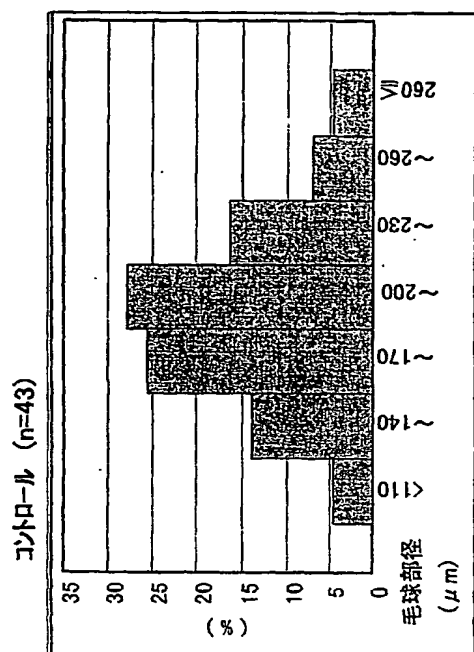


図 7

平均

	毛球部径 (μm)
コントロール	177 ± 8
化合物 3	195 ± 5 *

*: <0.05

図 8

塗布前



6ヶ月間塗布後



SEQUENCE LISTING

<110>TAISHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.

<120>HAIR GROWTH PREPARATION

<130>P600

<160>61

<150>JP 2002-115529

<151>2002-04-17

<210>1

<211>365

<212>PROTEIN

<213>HOMO SAPIENS

<400>1

Met	Ala	Gly	Ser	Ala	Met	Ser	Ser	Lys	Phe	Phe	Leu	Val	Ala	Leu
					5				10					15
Ala	Ile	Phe	Phe	Ser	Phe	Ala	Gln	Val	Val	Ile	Glu	Ala	Asn	Ser
					20				25					30
Trp	Trp	Ser	Leu	Gly	Met	Asn	Asn	Pro	Val	Gln	Met	Ser	Glu	Val
					35				40					45
Tyr	Ile	Ile	Gly	Ala	Gln	Pro	Leu	Cys	Ser	Gln	Leu	Ala	Gly	Leu
					50				55					60
Ser	Gln	Gly	Gln	Lys	Lys	Leu	Cys	His	Leu	Tyr	Gln	Asp	His	Met
					65				70					75
Gln	Tyr	Ile	Gly	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Gly	Ile	Lys	Glu	Cys	Gln
					80				85					90
Tyr	Gln	Phe	Arg	His	Arg	Arg	Trp	Asn	Cys	Ser	Thr	Val	Asp	Asn
					95				100					105
Thr	Ser	Val	Phe	Gly	Arg	Val	Met	Gln	Ile	Gly	Ser	Arg	Gly	Thr
					110				115					120

Ala Phe Thr Tyr Ala Val Ser Ala Ala Gly Val Val Asn Ala Met			
	125	130	135
Ser Arg Ala Cys Arg Glu Gly Glu Leu Ser Thr Cys Gly Cys Ser			
	140	145	150
Arg Ala Ala Arg Pro Lys Asp Leu Pro Arg Asp Trp Leu Trp Gly			
	155	160	165
Gly Cys Gly Asp Asn Ile Asp Tyr Gly Tyr Arg Phe Ala Lys Glu			
	170	175	180
Phe Val Asp Ala Arg Glu Arg Glu Arg Ile His Ala Lys Gly Ser			
	185	190	195
Tyr Glu Ser Ala Arg Ile Leu Met Asn Leu His Asn Asn Glu Ala			
	200	205	210
Gly Arg Arg Thr Val Tyr Asn Leu Ala Asp Val Ala Cys Lys Cys			
	215	220	225
His Gly Val Ser Gly Ser Cys Ser Leu Lys Thr Cys Trp Leu Gln			
	230	235	240
Leu Ala Asp Phe Arg Lys Val Gly Asp Ala Leu Lys Glu Lys Tyr			
	245	250	255
Asp Ser Ala Ala Ala Met Arg Leu Asn Ser Arg Gly Lys Leu Val			
	260	265	270
Gln Val Asn Ser Arg Phe Asn Ser Pro Thr Thr Gln Asp Leu Val			
	275	280	285
Tyr Ile Asp Pro Ser Pro Asp Tyr Cys Val Arg Asn Glu Ser Thr			
	290	295	300
Gly Ser Leu Gly Thr Gln Gly Arg Leu Cys Asn Lys Thr Ser Glu			
	305	310	315
Gly Met Asp Gly Cys Glu Leu Met Cys Cys Gly Arg Gly Tyr Asp			
	320	325	330

Gln Phe Lys Thr Val Gln Thr Glu Arg Cys His Cys Lys Phe His

335

340

345

Trp Cys Cys Tyr Val Lys Cys Lys Lys Cys Thr Glu Ile Val Asp

350

355

360

Gln Phe Val Cys Lys

365

<210>2

<211>4428

<212>DNA

<213>HOMO SAPIENS

<400>2

```

ttaaggaaat cgggctgct cttcccacatc tggaagtggc ttcccacaca tcggctcgta 60
aactgattat gaaacatacg atgttaatic ggagctgcat ttcccagctg ggcactctcg 120
cgcgctggtc cccggggcct cgtccccac cccctgccct tccctccgc gtcctgcccc 180
cactctccac cccccgcgt ggccaccccg cctccttggc agcctctggc ggcagcgcgc 240
tccactcgcc tccctgctc ctctcgccca tggaaattaat tcggctcca ctgttgcctc 300
ggcccaggtt ggggagagga cggagggtgg ccgcagcggg ttcttgagtg aattaccag 360
gagggactga gcacagcacc aactagagag ggttcagggg gtgcgggact cgagcgagca 420
ggaaggaggc agcgccctggc accagggtt tgactcaaca gaattgagac acgtttgtaa 480
tcgtggcgt gccccgcga caggatccca gcgaaaalca gatttcctgg tgaggttgcg 540
tgggtggatt aatttggaaa aagaaactgc ctatatcttg ccatcaaaaa actcacggag 600
gagaagcgca gtaactaac agtaaacita agagaccccc gatgctcccc tggttiaact 660
tgtatgcttg aaaattatct gagagggaat aaacatctt tcttcttcc ctctccagaa 720
gtccattgga atattaaaggc caggagtgc tttggggatg gctggaagtg caatgtctc 780
caagtcttc ctagtggctt tggccatatt ttctctctc gccaggttg taattgaagc 840
caattcttgg tggctgctag gtatgaataa cctgttcag atgtcagaag tatalattat 900
aggagcacag cctctctgca gccaaactggc aggactttct caaggacaga agaaactgtg 960
ccacttgtat caggaccaca tgcagtaaat cggagaaggc gcgaagacag gcatcaaaga 1020

```

atgccagiat caatccgac atcgacggig gaactgcagc actgtggata acacctctgt 1080
ttttggcagg gtgatgcaga taggcagccg cgagacggcc ttacatacg ccgtgagcgc 1140
agcaggggig gtgaacgcca tgagccgggc gggccgcgag ggcgagctgt ccacctgcgg 1200
ctgcagccgc gccgcgcgcc ccaaggacct gccgcgggac tggctctggg gcggctgcgg 1260
cgacaacalc gactatggct accgccttgc caaggagttc gtggacgccc gcgagcggga 1320
ggcgcattcc gccaagggct cctacgagag tgcctgcata ctcatgaacc tgcacaacaa 1380
cgaggccggc cgcaggacgg tgtacaacct ggctgatlg gcctgcaagt gccatggggt 1440
gtccggcica tgtagcctga agacatgcig gctgcagctg gcagacttcc gcaagggtgg 1500
tgatgccctg aaggagaagt acgacagcgc ggcggccaig cggctcaaca gccggggcaa 1560
gttggatcac gtcaacagcc gcttcaactc gccaccaca caagacctgg tctacatcga 1620
ccccagccct gactactgcg tgcgcaatga gagcaccggc tcgctgggca cgcagggccg 1680
cctgtgcaac aagacgtcgg agggcatgga tggctgcgag ctcatgtgtc gcggccgtgg 1740
gtacgaccag ttcaagaccg tgcagacgga gcgtgccac tgcaagticc actgggtctg 1800
ctacgtcaag tgcaagaagt gcacggagat cgtggaccag tttgtgtgca agtagtgggt 1860
gccaccacgc acicagcccc gctccagga ccgccttatt tatagaaagt acagtattc 1920
tggtttttgg tttttagaaa tttttttat ttttcccaa gaattgcaac cggaaccatt 1980
tttttccctg ttaccatcta agaactctgt ggtttattat taataattata attattattt 2040
ggcaataatg ggggtgggaa ccacgaaaaa tttttttt gtggatcttt gaaaaggtaa 2100
tacaagactt cttttggata gtatagaatg aagggggaaa taacacatac cctaacttag 2160
ctgtgtggga catggtacac atccagaagg taaagaaata cattttcttt ttctcaata 2220
tgccatcata tgggatgggt aggttccagt tgaaagaggg tggtagaat ctattcaca 2280
ttcagcttct atgacaaaaa tgagtgtgaa attctctggt gcaagataaa aggtcttggg 2340
aaaacaaaac aaaacaaaac aaacctccct tcccagcag ggctgctagc ttgctttctg 2400
cattttcaaa atgataattt acaatggaag gacaagaatg tcatattctc aaggaaaaaa 2460
ggtatatac atgtctcatt ctctcaaat attccattg cagacagacc gtcatattct 2520
aatagctcat gaaatttggg cagcagggag gaaagtcgcc agaaattaaa aaatttaaaa 2580
ctcttatgtc aagatgtga tttgaagctg ttataagaat tgggattcca gatttgtaaa 2640
aagaccccca atgattctgg acactagatt tttgtttgg ggaggttggc ttgaacataa 2700

atgaaatac cigtatitc itaggatac ttggttagta aattataata gtagaaataa 2760
tacaigaac ccaticacag gtitcicagc ccaagcaaca aggtaatgc gigccatca 2820
gcacigcacc agagcagaca acctatitga ggaaaaacag tgaatccac cticctcic 2880
acactgagcc ctctcigatt cctccgtgtt gtgaigigat gcigggccag ttcccaaagc 2940
gcagctccac tgggicccct ttggtitgtag gacaggaaat gaaacattag gagctctgct 3000
tggaacacag ttactactt agggattit ttctctaaa actititit ttgaggagcag 3060
tagttitcta tgttttaag acagaacttg gctaattgaa ttacagagg tgitgcagcg 3120
tatcactgtt atgatccigt gtttagatta tccaticatg ctctcctat tgtactgag 3180
gtgtacctta aaacigtcc cagtgtactt gaacagtgc attataagg ggggaaatgt 3240
ggtttaaggg tgcctgatat ctcaaagtct ttgtacata acatatatat atatatacat 3300
atatataaat ataaatataa atatacica ttgcagccag tgatttagat ttacagctta 3360
ctciggggtt atctctcigt ctagagcatt gtgtccttc actgcagtc agtgggatt 3420
attccaaaag ttttttagt cttagacttg ggctgtggcc ccgctgigat cataccctga 3480
gcacgacgaa gcaacctcgt ttctaggaa gaagcttgag ttctgactca ctgaaatgcg 3540
tgttgggttg aagatatctt ttttcitit ctgcctcacc ccttctcic caacctccat 3600
ttctgttcac ttgttgaga gggcattact tgttcgttat agacatggac gtttaagagt 3660
attcaaaact cagaagcatc agcaatgtt ctctttictt agttcattct gcagaatgga 3720
aacccatgcc tattagaaat gacagtactt attaatgag tccctaagga atattcagcc 3780
cactacatag atagcttttt ttttttttt ttttttttaa taaggacacc tctttccaaa 3840
caggccatca aatatgttct tatctcagac ttacgttgtt ttaaaagtt ggaaagatac 3900
acatctttc atacccccc ttaggaggtt gggctttcat atcacctcag ccaactgigg 3960
ctcttaattt attgcataat gatalccaca tcagccaact gtggctcttt aatttattgc 4020
ataatgalat tcacatcccc tcagttgcag tgaattgtga gcaaaagatc ttgaaagcaa 4080
aaagcactaa ttagttaaa atgtcacttt ttgggtttt attatacaaa aacctgaag 4140
tactttttt atttgctaaa tcagattgtt ctttttagt gactcatgtt talgaagaga 4200
gtigagtita acaatcctag ctittaaaag aaactatita atgtaaaata ttctacatgt 4260
cattcagala ttatgtatat ctctagcct ttattctgta cttttaatgt acatattct 4320
gtcttgcgtg attgtatatt ttacttggt taaaaacaa acatcgaaag gcttatcca 4380

aatggaagat agaataataa aiaaaacgtt acttgtaaaa aaaaaaaa

4428

<210>3

<211>2460

<212>DNA

<213>HOMO SAPIENS

<400>3

cgiggcacgc gcggaagatt ctacagatc ttacagagtc atcttccctg agccccggaa 60
glttggaata acatttagcc cttcttttgg gaaactcagt ttctgacag aatttttgtt 120
ttaccctggg gttgacagtc tcgccagagg tctcatttca tactgtcttt tcggatctga 180
tcctcttggg aaacaggcgg ggaigtitta ccttacagag ccgatgtag tgtgagttcg 240
ctgtgagttc tttagatgtc tcaaacttgt ggggcctttt ctcggttga ctgggattga 300
agagggaaga ggcccaaggc gtltccgggc aagcggcggg gtttaagtga gatgcgactc 360
gtgaggctct ctttccgat ccccttttgg gacacctctt gcctacctct acctggagc 420
caggagagacc caagtcttgg tgaccggatg gggcgcctct cagtggcctt gggctctggg 480
aacgttgga ctttccctgg gggcttccgg ctgggagttg gttcggttt tgtggcttcg 540
gtcttaaaa agagatccgc tgtaatccgc cgaatctgtt atcaatttct ctgctgcttg 600
agccccggcc cagcgcccc gcccgccgcg aagcttgga agtgacgcg gccagcacca 660
atctgggccc ctgactcgga aacatgtcgc agcgtgtgtg tctatggacg cgtgtgagtg 720
tgtaaatgtg cagagtgig aatgtgtatg atgtgtgtgc acgcggcac ggctgccctt 780
ggggagagtt gactttgcag cctgggcctg gcgagaagca gactttgcag cccactccct 840
ccccggagg aaatttgaca cttaggcggg ggggtggggag atagccggag ctttctctct 900
cctagctggg gaaaccccag atttccattc tccaggatgc gccccccagc ttgacagctt 960
cttggggaca actggcctgg lgttgagacc ctgcttagca ggcgctgggg accacataag 1020
cattctcttt tggagaagcc ccgaagcgtc caggccaaag ggggcgggtt acggaagaaa 1080
aaccttgac gcccttgagc gcatagcttt accaggcctg cctaggctcc gccctttgcc 1140
cttttacggc acaggttcca agccaggctc tttccaccgc cttaaagagg ctacatttc 1200
ttttctttt tgtggaaggg gctccctcag gggctatggg cgaatgcagt cggcagggtt 1260

agacttacgt gtaaggggat ttttaaaacc cgtcctccc acccgaccc gccacctact 1320
 cgtccgccg ccgctiacag gaggagaagt caccagigg gaggaacggc agcggaagct 1380
 tccaaggcca acicctaccc ctgaaatct tcaggaagg aaccttcgc gctggggggc 1440
 tctitggccl ggaatcgaig cccccagctg cggctcggaa gccagcgct ciggccccgt 1500
 ciggactcat ctgcaagggc tcggcctcg ccccgaccc ccaccttcg ggactgaccg 1560
 aaccaagtct gagtgggct ggagaggcta gactggaggc aggtggcag agttccaacg 1620
 acaggctcgc agtccgcga atggcaaagt gggccacaac cccagatcag gaccagaga 1680
 aactggagtc tctctcggg cctccatct cctccctccc tggcaactac caggttgttg 1740
 ggtgggagg agagtgaata atcaagaatt tgggagaaag ctgtggggag ggcagggaag 1800
 ggatcctct ccccgggga gcgagacca gactccctc tttctctag ggttccatcc 1860
 ctctctcag tccgtggaag aggccacagg cgacgcggc gagggiggca ctctttcca 1920
 gtctcttgg ttgggagacc cgacctctc ctccattat ccctagggcc cccatctct 1980
 tctccctcc ctagtctggc tgaagaacgt ccttaaggaa atccgggctg ctcttccca 2040
 tctggaagt gctttccca catcggtcg taaactgatt atgaaacata cgatgttaat 2100
 tccgagctg atttccagc tgggactct cgcgcgtgg tccccgggc ctgcccccc 2160
 accccctgc ctctctccc gcgtccigcc cccatctcc acccccgcg ctggccacc 2220
 cgctctctg gcagcctcg gcggcagcg gctccactg cctcccgtc tctctcgcc 2280
 catggaatta attctggct cacttgttc tcggcccagg ttggtgagag gacggagggt 2340
 gccacagcg ggttctgag tgaattacc aggagggac gagcacagca ccaactagag 2400
 gggggccagg ggttcggga ctgagcgag caggaaggag gcagcgctg gcaccagggc 2460.

<210>4

<211>585

<212>PROTEIN

<213>HOMO SAPIENS

<400>4

Met Ala Arg Pro Asp Pro Ser Ala Pro Pro Ser Leu Leu Leu Leu

5

10

15

Leu Leu Ala Gln Leu Val Gly Arg Ala Ala Ala Ala Ser Lys Ala

20	25	30
Pro Val Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Met Cys Arg Gly Ile Gly		
35	40	45
Tyr Asn Leu Thr His Met Pro Asn Gln Phe Asn His Asp Thr Gln		
50	55	60
Asp Glu Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu Val Glu		
65	70	75
Ile Gln Cys Ser Pro Asp Leu Arg Phe Phe Leu Cys Thr Met Tyr		
80	85	90
Thr Pro Ile Cys Leu Pro Asp Tyr His Lys Pro Leu Pro Pro Cys		
95	100	105
Arg Ser Val Cys Glu Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ser Pro Leu Met		
110	115	120
Arg Gln Tyr Gly Phe Ala Trp Pro Glu Arg Met Ser Cys Asp Arg		
125	130	135
Leu Pro Val Leu Gly Arg Asp Ala Glu Val Leu Cys Met Asp Tyr		
140	145	150
Asn Arg Ser Glu Ala Thr Thr Ala Pro Pro Arg Pro Phe Pro Ala		
155	160	165
Lys Pro Thr Leu Pro Gly Pro Pro Gly Ala Pro Ala Ser Gly Gly		
170	175	180
Glu Cys Pro Ala Gly Gly Pro Phe Val Cys Lys Cys Arg Glu Pro		
185	190	195
Phe Val Pro Ile Leu Lys Glu Ser His Pro Leu Tyr Asn Lys Val		
200	205	210
Arg Thr Gly Gln Val Pro Asn Cys Ala Val Pro Cys Tyr Gln Pro		
215	220	225
Ser Phe Ser Ala Asp Glu Arg Thr Phe Ala Thr Phe Trp Ile Gly		

230	235	240
Leu Trp Ser Val	Leu Cys Phe Ile Ser Thr Ser Thr Thr Val Ala	
245	250	255
Thr Phe Leu Ile Asp Met Asp Thr Phe Arg Tyr Pro Glu Arg Pro		
260	265	270
Ile Ile Phe Leu Ser Ala Cys Tyr Leu Cys Val Ser Leu Gly Phe		
275	280	285
Leu Val Arg Leu Val Val Gly His Ala Ser Val Ala Cys Ser Arg		
290	295	300
Glu His Asn His Ile His Tyr Glu Thr Thr Gly Pro Ala Leu Cys		
305	310	315
Thr Ile Val Phe Leu Leu Val Tyr Phe Phe Gly Met Ala Ser Ser		
320	325	330
Ile Trp Trp Val Ile Leu Ser Leu Thr Trp Phe Leu Ala Ala Ala		
335	340	345
Met Lys Trp Gly Asn Glu Ala Ile Ala Gly Tyr Gly Gln Tyr Phe		
350	355	360
His Leu Ala Ala Trp Leu Ile Pro Ser Val Lys Ser Ile Thr Ala		
365	370	375
Leu Ala Leu Ser Ser Val Asp Gly Asp Pro Val Ala Gly Ile Cys		
380	385	390
Tyr Val Gly Asn Gln Asn Leu Asn Ser Leu Arg Arg Phe Val Leu		
395	400	405
Gly Pro Leu Val Leu Tyr Leu Leu Val Gly Thr Leu Phe Leu Leu		
410	415	420
Ala Gly Phe Val Ser Leu Phe Arg Ile Arg Ser Val Ile Lys Gln		
425	430	435
Gly Gly Thr Lys Thr Asp Lys Leu Glu Lys Leu Met Ile Arg Ile		

440	445	450
Gly Ile Phe Thr Leu Leu Tyr Thr Val Pro Ala Ser Ile Val Val		
455	460	465
Ala Cys Tyr Leu Tyr Glu Gln His Tyr Arg Glu Ser Trp Glu Ala		
470	475	480
Ala Leu Thr Cys Ala Cys Pro Gly His Asp Thr Gly Gln Pro Arg		
485	490	495
Ala Lys Pro Glu Tyr Trp Val Leu Met Leu Lys Tyr Phe Met Cys		
500	505	510
Leu Val Val Gly Ile Thr Ser Gly Val Trp Ile Trp Ser Gly Lys		
515	520	525
Thr Val Glu Ser Trp Arg Arg Phe Thr Ser Arg Cys Cys Cys Arg		
530	535	540
Pro Arg Arg Gly His Lys Ser Gly Gly Ala Met Ala Ala Gly Asp		
545	550	555
Tyr Pro Glu Ala Ser Ala Ala Leu Thr Gly Arg Thr Gly Pro Pro		
560	565	570
Gly Pro Ala Ala Thr Tyr His Lys Gln Val Ser Leu Ser His Val		
575	580	585

<210>5

<211>2334

<212>DNA

<213>HOMO SAPIENS

<400>5

```

accaggac ggaggacca ggcaggcttg gggactgct gctcttctcg gcgggagccg   60
tggagagtc tttccctgga atccgagccc taaccgtctc tccccagccc tatccggcga  120
ggagcggagc gctgccagcg gaggcagcgc ctccccaag cagtttatct ttggacggtt  180
ttcttttaag gaaaaacgaa ccaacagggt gccagccccg gcgccacaca cgagacgccg  240

```

gagggagaag ccccgccccg gattccctctg cctgtgtgcg tccclcgcg gctgtgtggag 300
gcgaggggag ggagggggcg atggctcggc ctgacccaac cgcgcgcgcc tgcgtgttgc 360
tgcgtcctcc ggcgagcgtg gtgggccccg cggccgcgcg gtccaaggcc ccggtgtgcc 420
aggaaatcac ggtgccaatg tgcgcgggca tggclacaa cctgacgac atgccaacc 480
agttcaacca cgacacgcag gacgagggcg gccgtggagt gcaccagttc igggcgctgg 540
tggagatcca atgctcgccg gacctgcgt tcttctatg cactatgtac acgccaatc 600
gtctgcccga ctaccacaag ccgtgcgcg cctgcgcctc ggtgtgtgag cgcgccaagg 660
ccggctgtct gccgtgatg cgcagtagc gcttcgctg gccgagcgc atgagctgct 720
accgctctcc ggtgtcgggc cgcgagccg aggtctctg catggatc aaccgcagc 780
aggccaccac ggcgcccccc aggctttcc cagccaagcc cacccttcca ggcccgccag 840
ggcgccggc ctggggggcg gaatccccg ctggggggcc gtctgtgtc aagtgtgcg 900
agcccttctg gccattctg aaggagtcac accgctcta caacaaggig cggacgggcc 960
agggtcccaa ctgcgcggta cctgtctacc agcgtctt cagtgcgcg gagcgacgt 1020
tcgccacctt ctggataggc ctgtgttgcg tgcgtgtct catctccag tccaccacg 1080
tggccacctt cctcatgac atggacagc tccgtatcc tgagcgccc atcatcttc 1140
tgtcagctg ctacctgtc gtgtgcctg gcttctgtt gcgtctggc gtgggccaatg 1200
ccagcgtggc ctgcagccg gagcacaacc aatccacta cgagaccac ggccctgcac 1260
tgtgcacat cgtcttctc ctggtctact tcttggcat ggccagctc atctgttgg 1320
tcatctgtc gctaccttg tcttggccg ccgcgatga gtggggcaac gaggccatc 1380
cgggctacgg ccagtactc cactggctg cgtggctcat cccagcgtc aagtcacat 1440
cggcactggc gctgagctc gtggacggg acccagtgcc cggcatctc tacgtggga 1500
accagaacct gaactcgtg cggcgcttc gtctgggcc gctgtgtct tacctgttg 1560
tgggcacgt cttctgtg gcgggcttc gtctgtctt ccgcatccg agcgtcatc 1620
agcagggcg caccaagac gacaagctg agaagctat gatccgcat ggcatctca 1680
cgctgtcta cacgtcccc gccagcatt tgggtggcct ctacctgtc gagcagcact 1740
accgcgagag ctgggagggc gcgtcacct gcgcctgcc ggccacgac accggccagc 1800
cgcgcgcaa gcccgagta tgggtgtca tctcaagta ctcatgtc ctgtgttg 1860
gcatcacgtc gggcgcttg atctgtcgg gcaagacgt ggagtcgtg cggcgttca 1920

ccagccgctg ctgctgccgc ccgcggcgcg gccacaagag cgggggcgcc atggccgcag 1980
 gggactaccc cgaggcgagc gccgcgctca caggcaggac cgggcccgcg ggccccgcg 2040
 ccacctacca caagcaggig tcccgtcgc acgtgtagga ggcigccgcc gagggactcg 2100
 gccggagagc tgaggggagg gggcggtttt gtttggtagt ttgccaagg tcatttccgt 2160
 ttacctcat ggtgctgttg cccctcccg cggcgactig gagagaggga agaggggcgt 2220
 tticgaggaa gaacctgtcc caggtcttct ccaaggggcc cagctcacgt gtattctatt 2280
 ttgcgttct tacttgctt cttatggga accctcttt taatttatat gtat 2334

<210>6

<211>570

<212>PROTEIN

<213>RATTUS SP.

<400>6

Met Arg Ala Arg Ser Ala Leu Pro Arg Ser Ala Leu Pro Arg Leu		
	5	10 15
Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Pro Ala Ala Gly Pro Ala Gln Phe		
	20	25 30
His Gly Glu Lys Gly Ile Ser Ile Pro Asp His Gly Phe Cys Gln		
	35	40 45
Pro Ile Ser Ile Pro Leu Cys Thr Asp Ile Ala Tyr Asn Gln Thr		
	50	55 60
Ile Met Pro Asn Leu Leu Gly His Thr Asn Gln Glu Asp Ala Gly		
	65	70 75
Leu Glu Val His Gln Phe Tyr Pro Leu Val Lys Val Gln Cys Ser		
	80	85 90
Pro Glu Leu Arg Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Ala Pro Val Cys		
	95	100 105
Thr Val Leu Glu Gln Ala Ile Pro Pro Cys Arg Ser Ile Cys Glu		
	110	115 120

Arg Ala Arg Gln Gly Cys Glu Ala Leu Met Asn Lys Phe Gly Phe			
	125	130	135
Gln Trp Pro Glu Arg Leu Arg Cys Glu His Phe Pro Arg His Gly			
	140	145	150
Ala Glu Gln Ile Cys Val Gly Gln Asn His Ser Glu Asp Gly Thr			
	155	160	165
Pro Ala Leu Leu Thr Thr Ala Pro Pro Ser Gly Leu Gln Pro Gly			
	170	175	180
Ala Gly Gly Thr Pro Gly Gly Pro Gly Gly Gly Gly Ala Pro Pro			
	185	190	195
Arg Tyr Ala Thr Leu Glu His Pro Phe His Cys Pro Arg Val Leu			
	200	205	210
Lys Val Pro Ser Tyr Leu Ser Tyr Lys Phe Leu Gly Glu Arg Asp			
	215	220	225
Cys Ala Ala Pro Cys Glu Pro Ala Arg Pro Asp Gly Ser Met Phe			
	230	235	240
Phe Ser His His His Thr Arg Phe Ala Arg Leu Trp Ile Leu Thr			
	245	250	255
Trp Ser Val Leu Cys Cys Ala Ser Thr Phe Phe Thr Val Thr Thr			
	260	265	270
Ser Leu Val Ala Met Gln Arg Phe Arg Tyr Pro Glu Arg Pro Ile			
	275	280	285
Ile Phe Leu Ser Gly Cys Tyr Thr Met Val Ser Val Ala Tyr Ile			
	290	295	300
Ala Gly Phe Val Leu Gln Glu Arg Val Val Cys Asn Glu Arg Phe			
	305	310	315
Ser Glu Asp Gly Tyr Arg Thr Val Gly Gln Gly Thr Lys Lys Glu			
	320	325	330

Gly Cys Thr Ile Leu Phe Met Met Leu Tyr Phe Phe Ser Met Ala		
335	340	345
Ser Ser Ile Trp Trp Val Ile Leu Ser Leu Thr Trp Phe Leu Ala		
350	355	360
Ala Gly Met Lys Trp Gly His Ala Ala Ile Glu Ala Asn Ser Gln		
365	370	375
Tyr Phe His Leu Ala Ala Trp Ala Val Pro Ala Val Lys Thr Ile		
380	385	390
Thr Ile Leu Ala Met Gly Gln Ile Asp Gly Asp Leu Leu Ser Gly		
395	400	405
Val Cys Phe Val Gly Leu Asn Arg Leu Asp Pro Leu Arg Gly Phe		
410	415	420
Val Leu Ala Pro Leu Phe Val Tyr Leu Phe Ile Gly Thr Ser Phe		
425	430	435
Leu Leu Ala Gly Phe Val Ser Leu Phe Arg Ile Arg Thr Ile Met		
440	445	450
Lys His Asp Gly Thr Lys Thr Glu Pro Leu Glu Arg Leu Met Val		
455	460	465
Arg Ile Gly Val Phe Ser Val Leu Tyr Thr Val Pro Ala Thr Ile		
470	475	480
Val Ile Ala Cys Tyr Phe Tyr Glu Gln Ala Phe Arg Glu His Trp		
485	490	495
Glu Arg Ser Trp Val Ser Gln His Cys Lys Ser Leu Ala Ile Pro		
500	505	510
Cys Pro Ala His Tyr Thr Pro Arg Thr Ser Pro Asp Phe Thr Val		
515	520	525
Tyr Met Ile Lys Tyr Leu Met Thr Leu Ile Val Gly Ile Thr Ser		
530	535	540

Gly Phe Trp Ile Trp Ser Gly Lys Thr Leu His Ser Trp Arg Lys

545

550

555

Phe Tyr Thr Arg Leu Thr Asn Ser Arg His Gly Glu Thr Thr Val

560

565

570

<210>7

<211>1912

<212>DNA

<213>RATTUS SP.

<400>7

```

aggggaaggc gcgcggcttc tgggttgggg gggggggctg gggggcgccc aggagccgag 60
tggggggcgg cggccagcat gcggggccgc agcgccctgc cccgcagcgc cctgccccgc 120
cigtctgtgc cactgtgtgt gctgccggct gccgggcccgg ctcatgtcca cggggagaag 180
ggcatctcca tcccggaaca cggcttcgtc cagcccatct ccatcccgct gtcacggac 240
atgcctaca accagaccat catgccaac ctcttgggc acacgaacca agaggacgcg 300
ggcciggagg tgcattcaat ctaccgcgtg gtgaagggtc agtgctcgcc cgagctgcgc 360
ttcttctgti gctccatgia cgtccgggtg tgcacgggtc tggagcaggc catcccgccg 420
tgccgttcca tctgcgaacg cgcgcgcaa ggtgcgagg cgctcatgaa caagttcggc 480
ttccagtggc ccgagcgccf ccgtgcgag catctccgc gtcacggcgc ggagcagatc 540
tgcgtgggcc agaaccatic cgaggacgga actcctgcgc tactaccac cgcgccaccg 600
tctgggctgc agcctggcgc tgggtggcacc ccgggcggcc ctggcggttg tggcgcgccc 660
ccgcgctacg ccactctgga gcacccttc cactgtcccc gcgtctcaa ggtgccgttc 720
tatctcagct ataagtittt gggtagcgc gattgtgccg cgcctgcga gccgtcacgg 780
cccgacggct ccatgttctt ctgcaccac cacactcgtt ttgcccgtct ctggatcttc 840
acatggtcgg tgcgtgtgtg cgcttctact ttcttcacgg tcaccacctc tttagtggcc 900
atgcagcgat tccgtaccc agagcgcccc atcatcttc tgcgggttg ctacaccatg 960
gtgtcagtgg cctacattgc gggcttcgtc ctccaggagc gcgtgggttg caacgagcgc 1020
ttctctgagg acggttatcg cacgttgggg cagggcacta agaaagaagg ctgtactata 1080
ctcttcatga tgctctactt cttcagtatg gccagctcca tctggtgggt gattctgtcc 1140

```

cicaccitggt tccigggcagc cggatgaag tggggccacg cggccatcga ggccaaticg 1200
cagtacttcc accigggccgc cigggcggig ccggccgtca aaaccatcac catcctggcc 1260
atggggccaga tgcacggcga cctgclgagc ggctgtgtct tctgggcct caacaggctg 1320
gacccgtcgc gaggcctcgt gctggcgccg.ctcttcgtgt accgttcat cggcacatcc 1380
ttcctgtcgg cgggcctcgt gtcactctc cgcatccgca ccatcatgaa gcacgacggc 1440
accaagacgg agccgcctga gaggcicag gtgcgtatcg gcgtcttctc cgtgcctac 1500
accgtaccgg ccaccatcgt catgcctgc tacttctatg agcaggcctt ccgcgagcac 1560
tgggagcgt cgtgggtaag ccagcactgc aagagcclag ccatccccctg cccggccac 1620
tacagcccc gcacgtcgcc cgacttcaca gtctacatga tcaaatacct catgacgctc 1680
atcgtgggca tcacgtcggg ctctcggatc tggccggca agacgcigca ctctggagg 1740
aagttctaca cgcgtctcac caacagccgg catggagaga ccaccgtgtg aagcggctc 1800
gtcgtcgggc gccccctct cccaggtccg gactgcaacc gtcctctct tcatcggga 1860
ggggggtgca ccctacggac tctatctta tttttttaa taaagacag tg 1912

<210>8

<211>27

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a primer

<400>8

aatgtcttcc aagtcttcc tagtggc

27

<210>9

<211>22

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a primer

<400>9

gaigtcggaa ttgatactgg ca

22

<210>10

<211>20

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a primer

<400>10

accacagtc atgccaatcac

20

<210>11

<211>20

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a primer

<400>11

iccaccaccc tgttgctgta

20

<210>12

<211>38

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>12

gtcctgggag cggggcittt ttctcttgga aagaaagt

38

<210>13

<211>46

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>13

agagttctta gaiggttaaca ggaaattttt ctccttgaaa gaaagt

46

<210>14

<211>47

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>14

tatttccccc ttcatctiat actatctttt tcctcttgaa agaaagt

47

<210>15

<211>48

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>15

catagaagct gaattgtgaa tagatttttt ttctcttgga aagaaagt

48

<210>16

<211>38

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>16

gccctgcicg ggaagggtt ttccttgga aagaaagt

38

<210>17

<211>40

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>17

ccctccctgct gcccaaattt tttctcttg gaaagaaagt

40

<210>18

<211>44

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>18

atcccaattc ttataacagc ttcttttct ctgggaaaga aagt

44

<210>19

<211>43

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>19

cttggtgctt gggctgagaa actttttctc ttggaaagaa agt

43

<210>20

<211>44

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>20

ggctcagigt gaagaggaag gttttttctc ttggaaagaa agt

43

<210>21

<211>40

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>21

ccagtgagc tgccgtttgt ttttctttg gaaagaaagt

40

<210>22

<211>49

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>22

cactgtactt tctataaata agcggtttiti aggcatagga cccgtgtct

49

<210>23

<211>48

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>23

tttctaaaaa ccaaaaacca gaatttttta ggcataggac ccgtgtct

48

<210>24

<211>43

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>24

aaaaatgggt ccggttgcat ttttaggcat aggacccgig tct

43

<210>25

<211>57

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>25

caaataataa ttataatatt aataataaac cacttttttag gcataggacc cgtgtct

57

<210>26

<211>51

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>26

agatccacaa aataaatatt tttcgtgttt ttaggcatag gacccgtgtc t

51

<210>27

<211>50

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>27

ccacacagct aagttagggt atgtgttttt taggcatagg acccgtgtct 50

<210>28

<211>49

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>28

ttaccitctg gatgtgtacc atgtcttttt aggcatagga cccgtgtct 49

<210>29

<211>47

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>29

aacctaccca tcccataatga tggtttttag gcataggacc cgtgtct 47

<210>30

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>30

claccaccct ctticaactg gtttttaggc ataggacccg tgtct

45

<210>31

<211>47

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>31

ccagagaatt tacaactcat tttaggtttt taggcatagg acccgigtct

50

<210>32

<211>47

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>32

tccaagacc ttttatcttg catttttagg cataggaccc gigtct

46

<210>33

<211>49

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>33

aggtttggtt tgttttggtt tgtttttttt aggcatagga cccgigtct

49

<210>34

<211>47

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>34

glccttccat tgtaaattat catlctgltt ttaggcatag gacccgtgtc t 51

<210>35

<211>49

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>35

ttttccttga gaatatgaca tttttttttt aggcataagga cccgtgtct 49

<210>36

<211>50

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>36

ggagaatgag acatgtgata tacctttttt taggcatagg acccgtgtct 50

<210>37

<211>47

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>37

tcgtctgca aatggaatat ttgatttita ggcataggac ccgtgtct

48

<210>38

<211>48

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>38

tcatgagcta ttagaataatg acggttttta ggcataggac ccgtgtct

48

<210>39

<211>48

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>39

aattttttaa ttctgggga cttttttita ggcataggac ccgtgtct

48

<210>40

<211>52

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>40

aaatcaacat cttgacataa gagttttatt tttaggcata ggacccgtgt ct

52

<210>41

<211>46

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>41

ggggctctttt tacaaatctg gattttttagg cataggaccc gtgtct 46

<210>42

<211>51

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>42

agaaaataca ggatatttca ttatgtttt ttaggcatag gacccgtgtc t 51

<210>43

<211>56

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>43

tactattata atttactaac caagtatccc tattttttagg cataggaccc gtgtct 56

<210>44

<211>51

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>44

ctgtgaatgg gattcatgta ttatttcttt ttaggcatag gaccctgtc t

51

<210>45

<211>44

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>45

gttgaatggc acgcaattac tttttaggca taggaccctg gct

44

<210>46

<211>46

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>46

aggttgtctg ctctgggtgca gttttttagg cataggacc gtgtct

46

<210>47

<211>47

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>47

cacaacacgg aggaatcaga gagtttttag gcataggacc cgtgtct

47

<210>48

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>48

gaaacgtggc cagcatcaca ttttttaggc ataggaccgc tgtct

45

<210>49

<211>45

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>49

tgicctacaa ccaaagggga ctttttaggc ataggaccgc tgtct

45

<210>50

<211>46

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>50

gagctcctaa tgtttcattt ctttttagg cataggaccg gtgtct

46

<210>51

<211>46

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>51

agtttttagga aacaaaaaatc ccttttttagg cataggaccc gtgtct

46

<210>52

<211>49

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>52

gaaaactact gctcctcaaa ataaatitit aggcatagga cccgtgtct

49

<210>53

<211>24

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>53

attcttgggg aaaaataaaa aata

24

<210>54

<211>20

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>54

gttcccaccc ccattattgc

20

<210>55

<211>28

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>55

caaaagaagt cttgtattac cttttcaa

28

<210>56

<211>29

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>56

catatttgag aaaaagaaaa tgtatttct

29

<210>57

<211>23

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>57

aaaatgcaga aagcaagcta gca

23

<210>58

<211>23

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>58

caaaaaatci agtgtccaga atcatig

27

<210>59

<211>19

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>59

tcaagccaac ctccccaaa

19

<210>60

<211>24

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>60

ggatttcact gtttttcctc aaat

24

<210>61

<211>25

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Designed nucleotide to act as a probe

<400>61

taagtagtga actgttttcc aagca

25

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.